FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N° 8

IDENTIFICATION DE QUELQUES DIURETIQUES SULFAMIDES PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

THESE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de MARSEILLE

Le 20 Décembre 1968

par

Monique ORINIER

née le 1er Janvier 1942

Interne - Médaille d'Or des Hôpitaux
Assistant à la Faculté

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Examinateurs de la Thèse

M. Le Professeur J. PASTOR, Président
M. Le Professeur F. PELLISSIER
M. Le Professeur Agrégé A. ARNOUX
M. Le Professeur Agrégé A. GAYTE-SORBIER

Assesseurs

TRAVAIL DE LA CHAIRE DE CHIMIE ANALYTIQUE ET HYDROLOGIE

SAINT LAMBERT EDITEUR
13 - AUBAGNE

IDENTIFICATION DE QUELQUES DIURETIQUES SULFAMIDES PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545823_0060

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N° 8

IDENTIFICATION DE QUELQUES DIURETIQUES SULFAMIDES PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

THESE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de MARSEILLE

Le 20 Décembre 1968

par

Monique ORINIER

née le 1er Janvier 1942

Interne - Médaille d'Or des Hôpitaux
Assistant à la Faculté

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Examinateurs de la Thèse :
M. Le Professeur J. PASTOR, Président
M. Le Professeur F. PELLISSIER
M. Le Professeur Agrégé A. ARNOUX
M. Le Professeur Agrégé A. GAYTE-SORBIER
Assesseurs

TRAVAIL DE LA CHAIRE DE CHIMIE ANALYTIQUE ET HYDROLOGIE

SAINT LAMBERT EDITEUR
13 - AUBAGNE

PERSONNEL ADMINISTRATIF

Doyen : H. GASTAUT.
Doyen honoraire : G. MORIN.
Assesseurs : Ch. GREBUS et J. CHARPIN.
Attaché Principal, Chef des Services Administratifs : P. MOUCHET.

PERSONNEL ENSEIGNANT

Professeurs honoraires

MM. MONGES, ROCHE, CHAUVIN, MATTEI, DE VERNEJOUL, GIRAUD, MERCIER, MARONNEAUD, VIGNOLI.

Professeurs titulaires de Chaires

	MM.
Anatomie appliquée et Chirurgie expérimentale	GRISOLI
Anatomie appliquée et chirurgie expérimentale	HENRY
Anatomie pathologique	GASTAUT
Bactériologie et virologie	BRAHIC
Biochimie médicale	LISSITZKY
Botanique et cryptogamie	PELLISSIER
Chimie	DUMAZERT
Chimie analytique et hydrologie	PASTOR
Chimie biologique	DERRIEN
Chimie minérale	MOURGUE
Clinique cardiologique et cardiologie expérimentale	JOUVE
Clinique chirurgicale	CARCASSONNE
Clinique chirurgicale	LAMY
Clinique chirurgicale	LENA
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	SALMON
Clinique de chirurgie thoracique	DOR
Clinique dermatologique	HADIDA
Clinique d'endocrinologie	VAGUE
Clinique exotique	BLANC
Clinique médicale	N...
Clinique médicale	AUDIER
Clinique médicale thérapeutique et des maladies du sang.	OLMER
Clinique des maladies infectieuses	RAYBAUD
Clinique des maladies des voies digestives et de la nutrition.	MONGES H.
Clinique médicale infantile	BERNARD R.
Clinique de neurologie	BOUDOURESQUES
Clinique neuro-chirurgicale	PAILLAS
Clinique obstétricale et gynécologique	N...
Clinique ophtalmologique	JAYLE
Clinique oto-rhino-laryngologique	APPAIX
Clinique pneumo-phtisiologique	CHARPIN
Clinique psychiatrique	SUTTER
Clinique rhumatologique	RECORDIER
Clinique stomatologique	LACHARD
Clinique urologique	DUCASSOU
Electrocardiologie	LEGRE
Histologie et embryologie	PICARD
Histologie et embryologie	STAHL
Hygiène et médecine sociale	SAUTET
Médecine expérimentale	DONNET
Médecine légale et médecine du travail	MOSINGER

Parasitologie	RANQUE
Pathologie chirurgicale	GRANJON
Pathologie interne	MOUREN
Pharmacie chimique et législation pharmaceutique	CRISTAU
Pharmacie galénique et matière médicale	BERNARD P.
Pharmacologie pharmaceutique	MERCIER J.
Physiologie	MORIN
Physiopathologie des voies respiratoires	LAVAL
Physique	DUBOULOZ
Physique médicale	ROUX
Thérapeutique	N...
Toxicologie	VIALA
Zoologie et microbiologie	GREBUS

Professeurs titulaires à titre personnel

MM.	BOURGEON René	Chirurgie.
	FARNARIER	Ophtalmologie.
	HOUEL	Chirurgie thoracique et chirurgie du cœur
	IMBERT	Chirurgie générale.
	LAFFARGUE	Anatomie pathologique.
	ORSINI	Pédiatrie.
	PAYAN	Anatomie pathologique.
	SERAFINO	Chirurgie.
	SERMENT	Obstétrique et gynécologie.
	TAMALET	Microbiologie.
	TISSIÉ	Oto-Rhino-Laryngologie.

Professeurs sans Chaires

MM. DEPIEDS, DESANTI, GEVAUDAN, CORRIOL, BARET, JULLIEN, DALMAS.

Maîtres de conférences Agrégés

MM.	ACHARD	MM.	FRANÇOIS	MM.	MURATORE
	ARDISSON		FOURNIER		NICOLI
	ARNOUX A.		GARCIN		PLASSE
	BATTESTI		GASCARD		RAYBAUD C.
	BERNARD P.-M.		GAUTHIER		REYNAUD
	BIMAR		GAYTE-SORBIER		RICHAUD
	BOUYALA		GERARD		RICHELME
	BUISSON		GIRAUD F.		ROLLAND
	BUREAU		GHIGLIONE		SALAMON
	CARCASSONNE M.		GRIMAUD		SARACCO
	CLAUSTRE		GUERINEL		SARLES
	CODACCIONI		HUGUET		SEDAN
	CHEVROT		IMBERT Paul		SEITE
	COMBALBERT	M^me^	JOUVE		SOULAYROL
	COURBIER	MM.	KAPHAN		SPITALIER
	CREVAT		LANZA Maurice		TARANGER
	DELMONT		LOUCHET		TATOSSIAN
	DOR		MONGIN		TOGA
	DUMON		MONTIES		VITRY
					ZWIRN

Agrégés en exercice

MM. BERARD
BREMOND
BRICOT
CARCASSONNE Y.
CASANOVA

MM. COIGNET
COMITI
GARES
JEAN
MICHOTEY

MM. MONGES André
REBOUD
RUF
SIMONIN
TEMINE
TRIFAUD

Agrégés libres

MM. BERTHIER
BOURRET
CHAUVIN

DEVIN
FIGARELLA
MM. GAMBARELLI

OLLIVIER
OURGAUD
PAOLI

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

qui m'ont toujours entourée de tendres prévenances et ont été pour moi l'exemple permanent de la droiture et du travail.

Je vous offre cet ouvrage, qui est aussi le vôtre, en témoignage de mon amour filial.

A TOUS LES MIENS,

A MA FAMILLE,

A MES AMIS.

A NOTRE JURY DE THÈSE.

A NOTRE PRESIDENT DE THÈSE,

Monsieur Le Professeur J. PASTOR.

Vous nous avez accueillie dans votre Laboratoire dès notre première année d'études en Pharmacie, et nous avez dispensé sans compter un enseignement patient et rigoureux, nous donnant toujours l'exemple d'un travail acharné.

Grâce à vous, nous avons préparé l'Internat et pendant quatre ans vous nous avez initiée à la Biologie et donné le goût de la recherche et l'exemple de la probité dans le travail.

Vous avez bien voulu nous donner notre sujet de thèse ; nous vous remercions de l'aide si précieuse que vous nous avez accordée tout au long de la rédaction de cet ouvrage.

Trouvez, ici, le témoignage de notre admiration et de la fierté que nous avons de vous compter comme notre Maître.

A Monsieur Le Professeur F. PELLISSIER.

Nous l'avons eu comme Professeur à la Faculté et, jeune étudiante, nous avons été charmée par ses Cours et son aménité.

Nous le remercions d'être Juge de ce modeste travail.

Qu'il trouve ici la marque de notre profond respect et de notre reconnaissance.

A Monsieur Le Professeur Agrégé A. ARNOUX.

Elève, nous avons eu le privilège de vous avoir comme Chef de Travaux pratiques, et nous avons bénéficié de vos précieux conseils.

Assistant, nous vous sommes reconnaissante de votre bienveillante sollicitude.

A Monsieur Le Professeur Agrégé A. GAYTE-SORBIER.

Vous nous avez aidée de vos conseils dans la préparation de cette thèse et nous sommes sensible à la cordialité que vous nous avez toujours témoignée.

Nous sommes heureuse de vous compter parmi les Membres de notre Jury.

A MES MAITRES DE STAGE

A MES PROFESSEURS DE FACULTÉ

A TOUS MES CAMARADES.

INTRODUCTION

La Chromatographie sur couche mince, récemment inscrite au 1er Supplément du Codex 1965 et initialement préconisée et étudiée par STAHL, dès 1956, est très largement utilisée pour l'identification de nombreuses espèces chimiques.

Dans le domaine de la Pharmacie, elle a simplifié beaucoup de problèmes d'identification, en particulier dans le cas de formes galéniques.

Le Professeur PASTOR nous a demandé d'appliquer cette méthode à l'identification d'une classe pharmacodynamique de médicaments fort en vogue à l'heure actuelle : les sulfamides diurétiques.

A la suite des recherches réalisées par RAIMONDI et VALIMAMOD, nous nous proposons d'effectuer une étude systématique de la méthode d'identification proposée.

Notre thèse comprendra donc trois parties : Dans la première, nous présenterons les sulfamides diurétiques, ainsi que les procédés d'identification par chromatographie déjà décrits, qu'il s'agisse de chromatographie de partage ou de chromatographie sur couche mince. Dans la seconde partie, nous décrirons la mise au point de la méthode en abordant successivement la présentation des nombreux essais relatifs au choix des solvants de développement, l'étude systématique de ceux que nous avons retenus comme étant valables et, enfin, une étude succincte des relations existant entre la structure chimique des corps étudiés et la migration chromatographique. Dans la dernière partie, enfin, nous donnerons la méthode retenue pour l'identification systématique en illustrant cette méthode par tous les essais réalisés sur solution pure, comprimés, et sur des mélanges binaires de sulfamidés.

PREMIERE PARTIE

PRESENTATION DES SULFAMIDES DIURETIQUES ET IDENTIFICATION

CHAPITRE PREMIER

LES SULFAMIDES DIURETIQUES

LA PLACE DES SULFAMIDES PARMI LES DIURETIQUES

Bien qu'une thèse de Chimie Analytique puisse se limiter à l'étude des procédés d'identification d'une catégorie de médicaments, nous pensons que notre séjour à l'Hôpital en tant qu'Interne en Pharmacie nous ayant permis de nous familiariser avec les différentes classes de spécialités, leurs effets, leur retentissement sur certaines constantes biologiques, il était intéressant de placer l'ensemble des produits que nous devions étudier dans le groupe pharmacodynamique auquel il appartient. C'est pourquoi nous nous permettrons, dans ce chapitre, de faire un bref exposé sur les diurétiques à seule fin de mieux situer ceux qui nous intéressent. L'historique qui suivra est uniquement destiné à montrer qu'il s'agit de médicaments d'utilisation actuelle, et, enfin, le paragraphe relatif à l'emploi des diurétiques ne sera en quelque sorte qu'une réminiscence de nos fonctions d'Interne. Nous supposerons toutefois connue la structure anatomique du néphron.

1. - L'ACTION DIURETIQUE.

Dans ce paragraphe, nous présentons successivement l'action diurétique au niveau du glomérule, du tube proximal et du tube distal sans mentionner l'anse de Henlé puisqu'il semble bien que les diurétiques ne jouent qu'un rôle minime au niveau de cette partie du néphron.

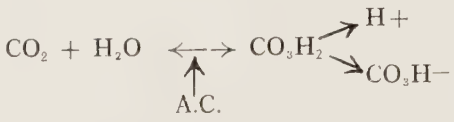
Le rôle fondamental joué par le sel dans la genèse des œdèmes fut méconnu ou sous-estimé jusqu'au début de ce siècle, en France. Les travaux effectués sur les différents secteurs hydriques de l'organisme ont montré que, quelles que soient leurs causes, quelle que soit la complexité des mécanismes intermédiaires qui aboutissent à leur installation, tous les œdèmes sont la conséquence d'une réabsorption excessive de l'ion sodium au niveau du tube rénal. On ne peut saisir les bases théoriques de l'action des diurétiques sans avoir présentes à l'esprit les notions sommaires de physiologie que nous rappelons ci-dessous.

1°) **Au niveau du glomérule :**

L'urine se présente comme un ultra filtrat plasmatique où la concentration en ions est identique à celle du plasma.

2°) **Au niveau du tube proximal :**

Il y a réabsorption d'environ 7/8 de l'eau et du sodium. Ce dernier passe par phénomène physique dans la cellule tubulaire. Le passage vers l'atmosphère péritubulaire se fait par un processus actif : « pompe à sodium », l'ion hydrogène échangé pour un ion sodium provient de l'hydratation du CO_2 cellulaire selon une réaction catalysée par l'anhydrase carbonique (A.C.).



Selon les lois de l'osmose : de l'eau (6,6 ml), un milliéquivalent de chlore ou de bicarbonate accompagnent la migration d'un milliéquivalent de sodium.

3°) **Au niveau du tube distal :**

On assiste, à ce niveau, au deuxième échange cationique : le sodium réintègre la cellule tubulaire accompagné d'eau, en échange d'un ion potassium et d'un ion hydrogène. La réabsorption distale du sodium est contemporaine du processus d'acidification de l'urine, d'où la participation classique à l'équilibre acidobasique.

4°) **Cause des œdèmes :**

Deux mécanismes principaux peuvent être responsables de la rétention de sel et d'eau, donc de la production d'œdèmes :

— un abaissement de la filtration glomérulaire, dû à des remaniements de l'ultra-filtre ou à une constriction de l'artère afférente du glomérule, sans réduction proportionnelle de la réabsorption tubulaire ;

— une réabsorption tubulaire excessive de sodium, proximale plutôt que distale, sans augmentation proportionnelle de la filtration glomérulaire. Ce mécanisme est de loin le plus important.

Dans les deux cas, le déséquilibre glomérulotubulaire aboutit à une inflation du capital sodique de l'organisme ; le sodium s'accumule dans le volume circulant, le tissu interstitiel et même les cellules, l'eau est retenue secondairement.

L'action des diurétiques peut donc se manifester sur l'un des mécanismes suivants, régissant ainsi les mouvements d'électrolytes :

— les mécanismes enzymatiques (anhydrase carbonique en particulier) ;

— les mécanismes physiques et bioélectriques (pression osmotique) ;

— les agents assurant le contrôle hormonal avec, notamment, l'aldostérone qui semble être le facteur essentiel de la réabsorption du sodium au niveau des tubes.

Un bref historique va nous permettre de mieux suivre l'évolution des idées en matière de médicaments diurétiques.

II. - HISTORIQUE.

La thérapeutique ne disposait, jusqu'en 1950, pour lutter contre l'œdème que des diurétiques xanthiques, osmotiques et mercuriels — ces derniers présentaient d'ailleurs, pour la plupart d'entre eux, l'inconvénient majeur d'une administration par voie intramusculaire et celui non moins grave d'une action à court terme.

Certaines constatations cliniques allaient permettre d'utiliser d'anciennes molécules de type sulfamidé en tant que diurétiques. En effet, chez des malades traités par des sulfamides antimicrobiens, on nota une diminution des œdèmes et cette constatation trouva une interprétation dans l'action inhibitrice de ces produits sur l'anhydrase carbonique. Une nouvelle classe de diurétiques allait naître : les sulfamides inhibiteurs de l'anhydrase carbonique. Ils eurent pour chef de file l'*Acétazolamide* (Diamox*), administrable *per os*.

A côté de ces inhibiteurs, apparurent des dérivés, toujours de type sulfamidé mais de structure différente.

On s'aperçut que les dérivés halogénophénylsulfamidés, tels que le *Clofénamide* (Aquedux*) étaient plus actifs que les dérivés du Thiadiazole, comme l'Acétazolamide, qui en étaient les précurseurs, et que l'action diurétique était encore supérieure pour les molécules comportant deux groupements sulfamidés dont un inclus dans la molécule. La synthèse venait de produire les dérivés de type benzothiadiazinique (le premier fut le *Chlorothiazide*, ou Diurilix*). Ces corps ne possédaient plus une action essentiellement inhibitrice de l'anhydrase carbonique, mais surtout une action tubulaire propre.

Bien que le rôle primordial joué par la réabsorption du sodium, au cours des phénomènes de rétention hydrosalée, soit tout à fait connu, aucun des diurétiques mentionnés jusqu'ici ne s'opposait au mécanisme biologique de cette action. Une nouvelle classe de diurétiques possédant cette propriété naquit à la suite des immenses progrès réalisés en biochimie cortico-surrénalienne. Il est, certes, surprenant d'utiliser pour leur action diurétique des dérivés tels que l'Hydrocortisone ou la Cortisone quand on sait les précautions diététiques que ces deux stéroïdes exigent au cours de leur emploi en thérapeutique. Cependant, les faits expérimentaux et les résultats cliniques sont indiscutables : On note une augmentation du taux de filtration glomérulaire accompagnée d'une élimination accrue des ions sodium et potassium. L'*ACTH* et la *Cortisone* ont tout d'abord été utilisés avec succès dans le traitement des œdèmes du syndrome

néphrotique, puis leur emploi a été étendu aux traitements des œdèmes de toute nature. La *Triamcinolone* et la *Dexaméthasone*, par exemple, possèdent une activité minéralocorticoïde très réduite, mais augmentent, par contre, par élévation du flux glomérulaire, la diurèse hydrique et secondairement sodique.

Toujours dans le domaine de la biochimie cortisosurrénalienne, les physiologistes ont isolé l'hormone minéralocorticoïde : l'Aldostérone, responsable de l'intervention de la corticosurrénale dans le métabolisme des électrolytes. Le rôle capital joué par cette hormone a orienté les recherches vers la synthèse de substances capables soit d'arrêter la biogénèse surrénalienne d'Aldostérone (ce sont les inhibiteurs spécifiques, tels l'*Amphénone* et la *Métopirone*), soit de s'opposer à ses effets au niveau des cellules tubulaires (ce sont les *Spironolactones* ou des inhibiteurs non spécifiques, tels le *Triamtérène* ou l'*Acide Ethacrynique*).

III. - ESSAI DE CLASSIFICATION PHYSIOPATHOLOGIQUE.

Nous mentionnerons tout d'abord les dérivés agissant sur la filtration glomérulaire, puis ceux qui ont une action tubulaire proximale ou distale.

1°) Les modifications de la filtration glomérulaire :

Dans ce groupe, nous citerons :

a) - les colloïdes (Albumine — P.V.P. — Dextran) qui conduisent à une hypervolémie, puis à une augmentation de la filtration glomérulaire, entrainant une diurèse aqueuse, puis sodique ;

b) - les digitaliques qui corrigent la défaillance circulatoire responsable de la rétention de sel et d'eau par augmentation de la pression efficace, — la Caféine et la Théophylline agissent de même ;

c) - les corticoïdes qui sont des antagonistes de l'hormone du sel : l'Aldostérone, et de l'hormone antidiurétique post-hypophysaire. Une diurèse aqueuse précède dans ce cas la saliurèse.

2°) Les diurétiques tubulaires :

A) *Les diurétiques à action générale ou indéterminée :*

a) - les digitaliques : ils agissent aussi en inhibiteurs de l'Aldostérone ou en inhibant les pompes à sodium ;

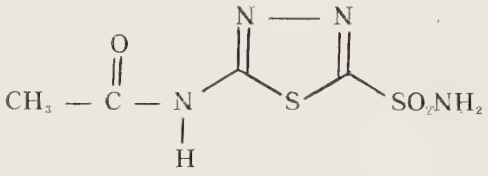
b) - la Théobromine : qui élève la filtration glomérulaire et inhibe la réabsorption tubulaire ;

c) - Certains sulfamides diurétiques.

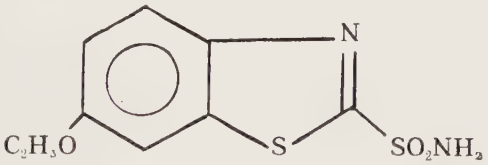
Ces dérivés possèdent un groupement SO_2NH_2 inhibiteur de l'anhydrase carbonique : ils interfèrent avec la production des ions hydrogène et, donc, avec les mécanismes d'échanges ioniques tubulaires. Pour Roblin, l'inhibition enzymatique résulte d'une similitude

stéréochimique entre le groupement sulfonamidé et l'acide carbonique. Dans le tube proximal, il y a blocage du système d'échange ion hydrogène - sodium, ce phénomène aboutit alors à l'excrétion des bicarbonates et à un moindre degré du sodium. Dans le tube distal et le tube collecteur, l'acidification de l'urine est responsable, elle aussi, d'une excrétion de bicarbonates, une sécrétion de potassium a lieu, la réabsorption du sodium quant à elle est peu touchée.

Ces propriétés se retrouvent essentiellemnt dans l'*Acétazolamide* (Diamox*), inhibiteur puissant de l'anhydrase carbonique.

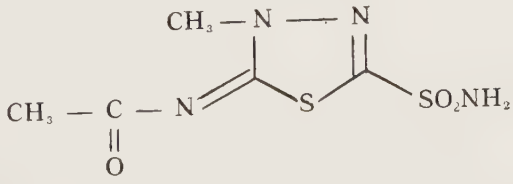


Ce corps diffuse rapidement dans l'économie générale et ne produit pas de phénomène d'accumulation. L'intérêt que présente ce produit s'est sans doute émoussé ces dernières années, et la synthèse a fait alors appel à des dérivés de même structure. Le premier d'entre eux fut l'*Ethoxzolamide* (Cardrase*).



Il n'est pas plus actif que son précurseur et n'a pas été synthétisé en France.

L'homologue supérieur de l'Acétazolamide se révéla plus intéressant : c'est le *Méthazolamide* (Neptazane*),



dérivé très proche par sa structure, il se présente comme un inhibiteur encore plus puissant de l'anhydrase carbonique, mais sa clearance rénale est beaucoup plus faible. Sa caractéristique principale n'est pas l'effet diurétique, mais son activité sur l'hypertonie occulaire dans le traitement du glaucome, notamment.

A coté des diurétiques à action tubulaire générale, nous devons présenter maintenant des diurétiques, toujours à action tubulaire, mais agissant cette fois préférentiellement sur le tube proximal ou bien distal.

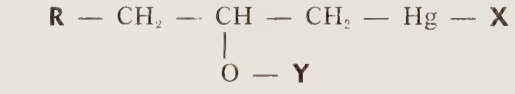
B) *Les diurétiques à action proximale :*

Dans ce groupe, nous allons retrouver deux classes importantes de diurétiques : les dérivés mercuriels, puis les sulfamides soit du type halogénophénylsulfamidé, soit benzothiadiazinique.

a) - Les organomercuriels :

Ces dérivés restent les diurétiques de référence. Ils diminuent la réabsorption tubulaire proximale du sodium, du chlore et de l'eau. Pour certains auteurs, les diurétiques mercuriels bloqueraient l'action enzymatique fournissant l'énergie à la pompe à sodium de la cellule.

L'importance de la configuration chimique de la molécule a été mise en évidence. Tous les diurétiques organomercuriels actuellement utilisés peuvent être rattachés au squelette mercuripropyl.



Cette structure doit répondre à un certain nombre de conditions pour que l'activité se manifeste et que le produit soit facile à employer. Il doit posséder :

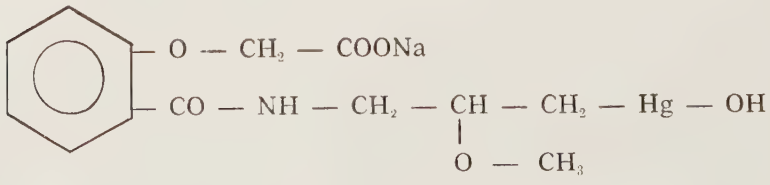
— une chaine d'au moins trois atomes de carbone,

— un atome de mercure à l'extrémité de la chaine,

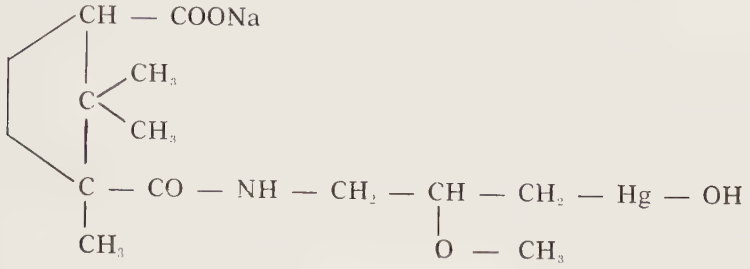
— un groupement polaire séparé du mercure par au moins trois carbones.

Le substituant **Y** est fonction du solvant utilisé pour la mercurisation : hydroxy quand le solvant est de l'eau, éthoxy ou méthoxy quand les solvants sont les alcools correspondants. Les amines II peuvent également être employées comme solvant, la nature de **Y** paraît sans influence sur l'activité ou la toxicité des composés. La nature de **R**, par contre, influence nettement la toxicité et l'activité. Dans la plupart des dérivés employés en clinique, le groupe **R** comporte un carboxy et se trouve lié au reste mercuripropyl par l'intermédiaire d'une fonction amide ; sa structure est des plus variable :

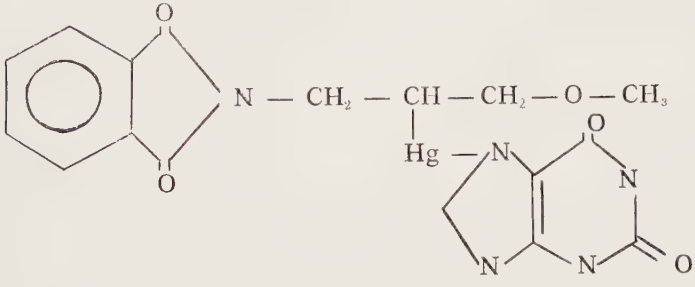
— aromatique : *Mersalyl* (Salyrgan*)



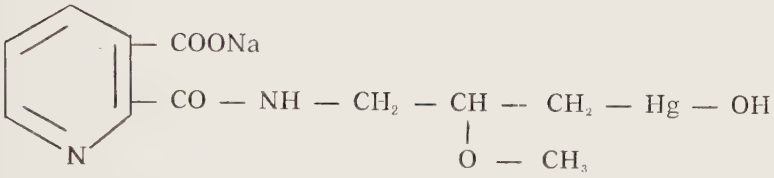
— alicyclique : *Mercurine* (Novurit*,



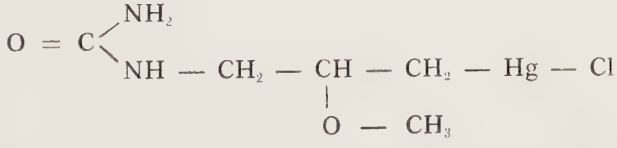
— ou hétérocyclique : *Polyurène*



Esidrone



Lorsque R est constitué par un reste uréique, si le deuxième azote n'est pas substitué, on est en présence d'un diurétique actif par voie buccale, c'est le cas de la *Chlormérodrine* (Percapyl*).

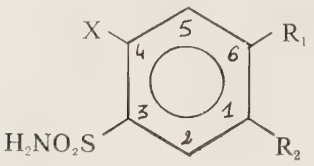


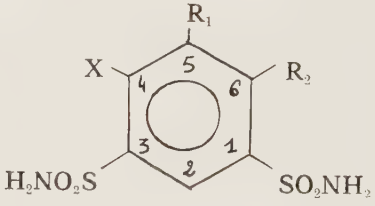
Le rôle du substituant **X**, qui est fréquemment constitué par la théophylline, un reste halogène ou un reste soufré, est de réduire la toxicité du dérivé, ou d'en augmenter la vitesse de résorption lorsqu'il est administré par voie intramusculaire. La base purique semble, en outre, ajouter l'action diurétique xanthique à celle des mercuriels.

b) - Les sulfamides :

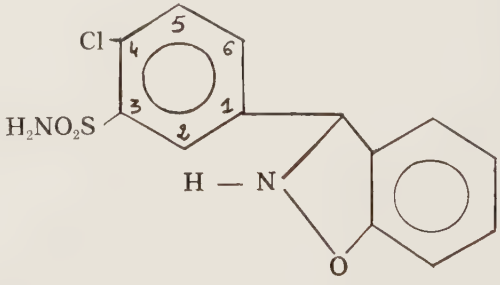
Les halogénophyénylsulfamides et les dérivés du type benzothiadiazine ont la propriété de bloquer la réabsorption tubulaire proximale du sodium, du chlore et de l'eau. L'effet salurétique ne dépend pas du groupement sulfonamide ; d'ailleurs, leur pouvoir d'inhibition de l'anydrase carbonique est extrêmement réduit. L'effet diurétique semble dû à une inhibition enzymatique. Il est toutefois différent de celui des mercuriels. Cliniquement, ces corps se présentent comme des excréteurs de l'eau, du sodium et du potassium, des inhibiteurs des ions ammonium et hydrogène. Les inconvénients de ces salurétiques puissants sont d'exposer le sujet à une production excessive d'aldostérone et à une déplétion en potassium.

Les propriétés diurétiques mentionnées se retrouvent notamment chez les dérivés aromatiques mono- ou disulfamidés :



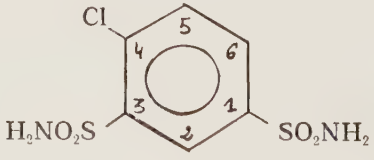


La plupart des monosulfamidés portent un atome de chlore en position 4, c'est le cas du *Chlorthalidon* (Hygroton*). On rencontre de plus dans cette molécule uns substitution iso indoline en R_2, alors que le carbone 6 n'est pas substitué.

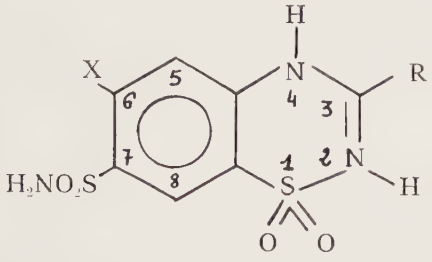


Par contre, tous les dérivés disulfamidés renferment la substitution chlorée, en 4.

Le chef de file en est le *Cloténamide* (Aquedux*).

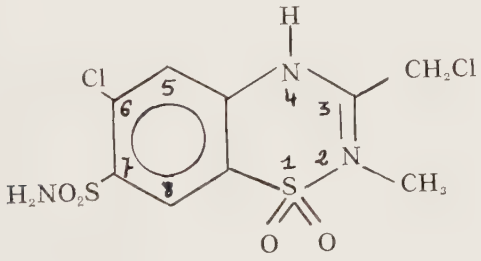


C'est d'ailleurs l'étude des composés aromatiques disulfamidés en 1.3. qui a permis à Sprague et Beyer de mettre en évidence l'activité diurétique de molécules possédant deux groupements sulfamides, un labile et l'autre inclus dans un hétérocycle. On aboutit ainsi aux dérivés de la Benzothiadiazine dont le premier représentant utilisé en clinique fut le *Chlorothiazide* (Diurilix*). A l'heure actuelle, de nombreux dérivés sont entrés dans la thérapeutique courante. Ils sont synthétisés à partir des 2.4. disulfamidoanilines qui sont cyclisées en sulfamylbenzothiadiazines.



Noyau 7 sulfamyl
1.2.4. benzothiadiazine

Rattachés à la 7 sulfamyl 1.2.4. benzothiadiazine ou à son dérivé di-hydrogéné en 3.4., les composés diurétiques de cette série sont tous porteurs au moins d'un substituant en 6 ; ce dernier est soit un atome de chlore, soit un radical trifluorométhyl. Certains possèdent ou non un autre substituant chloré en 3 et un seul : le *Méthyclothiazide* (Enduron*) est méthylé sur l'azote en position 2.



La réduction de la double liaison 3.4. augmente dans tous les cas l'activité.

Par exemple, l'*Hydrochlorothiazide* (Esidrex*) est plus actif que le *Chlorothiazide* (Diurilix*). Certaines substitutions en 3 sont également très favorables : *Bendroflumethiazide* (Naturine*) — *Téclothiazide* (Dépléil*) — *Cyclopenthiazide* (Navidrex*) sont environ dix fois plus actifs que l'Hydrochlorothiazide. Il en résulte une diminution considérable de la posologie qui passe de l'ordre du gramme à quelques milligrammes pour un effet diurétique identique et même souvent supérieur. Cette augmentation s'accompagne très souvent de certaines différences d'action : l'excrétion du potassium et des bicarbonates est plus faible, de même celle des chlorures.

Ce groupe de sulfamides, après les dérivés organomercuriels, termine l'étude succincte des diurétiques tubulaires à action proximale. Abordons maintenant ceux à action distale.

C) *Les diurétiques à action distale :*

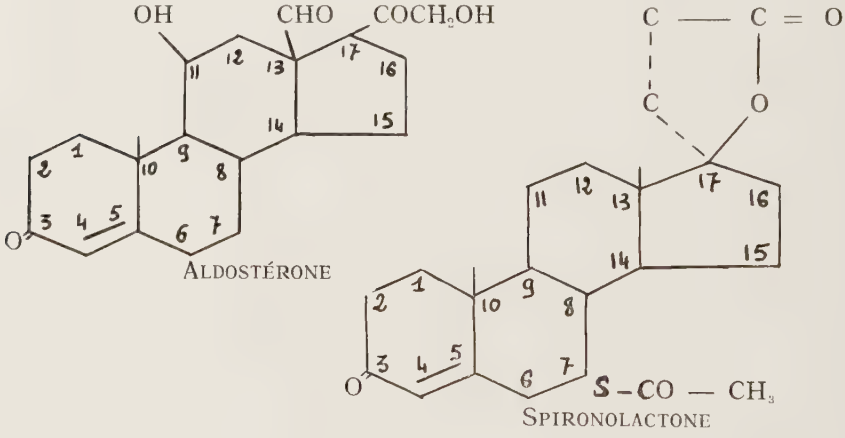
Nous citerons pour mémoire l'eau qui est le plus pur facteur de diurèse hydrique par son action osmotique. La plupart des eaux minérales, pauvres en électrolytes, possèdent un effet diurétique non négligeable.

Parmi les dérivés à action distale, une place importante doit être faite à des corps plus récents : ce sont les *Spironolactones.*

Les *inhibiteurs de la synthèse de l'Aldostérone,* des dérivés nouveaux, tels le *Triamtérène* et le *Furtérène,* et, enfin, l'*Acide Ethacrynique.*

a) - Les spironolactones :

Synthétisées en 1956, ces substances de nature stéroïdique sont caractérisées par l'existence d'un cycle lactonique à cinq sommets fixé en position 17 sur le noyau, d'où leur nom. Leur configuration structurale paraît proche de celle de l'Aldostérone.



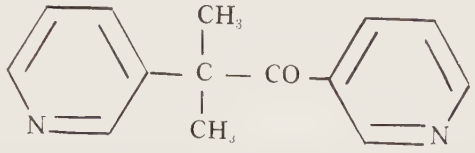
Les 17 spironolactones provoquent des modifications de l'excrétion des électrolytes urinaires, mais nécessitent, pour être actifs, la présence de l'aldostérone. Les spironolactones annulent les effets de cette dernière sur la réabsorption des électrolytes au niveau du tube rénal distal. La diurèse hydrique n'apparaît que 48 heures après l'administration et suit une perte d'électrolytes sans augmentation de la diurèse.

b) - Les inhibiteurs de la synthèse de l'aldostérone :

La synthèse se faisant à partir du cholestérol par un enchaînement de réactions catalysées par des enzymes spécifiques, on a pu synthétiser des inhibiteurs spécifiques de ces réactions.

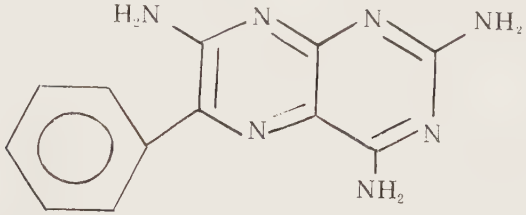
— L'*Amphénone B* a été introduite en thérapeutique, mais très tôt retirée en raison des blocages des processus de stéroïdogénèse qu'elle provoquait.

— La *Métopirone*



a également été utilisée dans le traitement des œdèmes avec hyperaldostérolisme ; on l'a aussi associée à d'autres diurétiques. La crainte d'incidents liés à son action antisurrénalienne a cependant fort limité son usage.

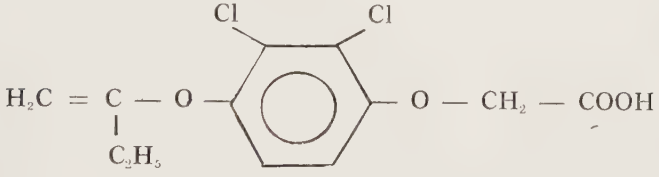
c) - Triamtérène et Furtérène :



Le *Triamtérène* entraîne une forte diurèse sodique, une réduction de l'élimination du potassium et une augmentation de celle des bicarbonates. Le mode d'action paraît au premier abord identique à celui des Spironolactones, cependant Triamtérène et Furtérène sont capables d'agir en l'absence de minéralo-corticoïdes et se comportent comme des antagonistes non spécifiques de l'Aldostérone. Ils agissent au niveau de la partie distale du tube contourné en provoquant une diminution des échanges ioniques dans les tubules. Par rapport aux Spironolactones, leur action est plus rapide, et leur effet d'accumulation inférieur.

d) - L'Acide éthacrinique :

Cet acide répond à la formule suivante :



Il agit à tous les niveaux du tube rénal. Il possède une action diurétique intense et de courte durée, son action est rapide, la prescription se fait surtout dans les cas d'urgence chez des sujets réfractaires aux thiadiaziniques et apparentés.

Dans ce dernier paragraphe, nous allons envisager de façon très succincte les indications et l'emploi de ces diurétiques.

IV. - EMPLOI DES DIURETIQUES.

Le traitement des œdèmes est évidemment l'objet essentiel des médications diurétiques. Que ces œdèmes soient d'origine cardiaque, hépatique ou rénale, il importe de se souvenir que la médication diurétique n'est pas symptomatique et doit s'intégrer dans un ensemble de mesures thérapeutiques absolument indispensables, la nécessité d'un repos allongé ne fait aucun doute pour les cardiaques, et un grand nombre d'œdémateux devraient également s'y soumettre. Un régime étudié s'avère indispensable avec une restriction sodée plus ou moins grande en fonction de la natrurie, la ration potassique doit être importante pour les sujets traités aux salurétiques et aux corticoïdes. De plus, le traitement éthiologique de la cause de l'œdème ne doit pas être négligé.

Dans le cadre, donc, du traitement de l'œdème, nous allons envisager plusieurs cas :

1°) L'insuffisance cardiaque :

Ici, la rétention hydrosaline joue un rôle considérable et c'est sans doute dans cette maladie que la thérapeutique diurétique trouve son indication majeure.

— En ce qui concerne l'insuffisance cardiaque commune, le traitement d'attaque sera constitué par les *dérivés mercuriels*, utilisés non pas seuls, mais en même temps que des anticoagulants. Les mercuriels sont utilisés pour leur effet constant et rapide. Le traitement d'entretien fera appel aux *Thiazidiques*, plus maniables et auxquels sera toujours adjoint un apport potassique (l'hypokaliémie augmentant la toxicité de la digitaline).

— Dans le traitement d'entretien et le traitement préventif, on fera encore appel aux *Sulfamidés* avec une posologie adaptée à chaque patient. Le seul danger émanant de leur emploi est d'ordre métabolique et peut être évité par une surveillance régulière de l'électrolytémie du sujet.

2°) Le cœur pulmonaire :

Cette affection se manifestant par une insuffisance ventriculaire droite et des troubles respiratoires, ordonne l'usage de l'*Acétazolamide* (Diamox*) qui, à côté de propriétés diurétiques discrètes, permet de lutter contre l'acidose.

3°) Les cirrhoses ascitiques :

Dans ce cas, les diurétiques constitueront encore un traitement purement symptomatique ; on fera surtout appel aux *Sulfamidés*, l'hypokaliémie devra être évitée par une surveillance fréquente du taux sanguin de cet électrolyte.

L'emploi des *Glucocorticoïdes* dans les ascites cirrhotiques, joint à un régime partiellement désodé, entraînera une perte de poids progressive ; la tolérance est bonne. Les *Spironolactones* se sont révélées, ici, comme étant une acquisition capitale, n'entraînant pas d'hypokaliémie. La natrémie, par contre, devra être surveillée.

4°) **Le syndrome néphrotique :**

Le choix du médicament diurétique dépendra de l'atteinte rénale. On aura recours soit à la *Corticothérapie*, soit aux *Sulfamides diurétiques ;* ici, les *Spironolactones* sont encore peu utilisés.

5°) **Les œdèmes de causes diverses :**

L'indication des diurétiques se révèle excellente dans le cas d'œdèmes idiopathiques, de syndromes prémenstruels ou d'œdèmes gravidiques ; on utilisera les *Corticoïdes* dans le cas des œdèmes cancéreux. Bien que l'œdème constitue le terrain de choix quant à l'utilisation des diurétiques, ces produits répondent également à d'autres indications, telles que l'hypertension artérielle, certaines obésités (où on leur a toutefois accordé une place souvent exagérée).

La pharmacopée actuelle met à notre disposition toute une gamme de diurétiques actifs susceptibles de transformer l'aspect clinique de nombreuses affections. Le mécanisme d'action de ces produits est très divers, les uns agissant sur le tube proximal, d'autres sur le tube distal, ou bien encore sont des antagonistes de l'Aldostérone. Leurs effets secondaires sont indésirables, mais liés à leur efficacité même. Nous pouvons ajouter que l'utilisation d'un diurétique ne doit pas être le résultat du hasard ou l'attrait de la dernière nouveauté, mais d'une connaissance précise de chaque drogue, de l'état clinique et métabolique du malade destiné à en bénéficier.

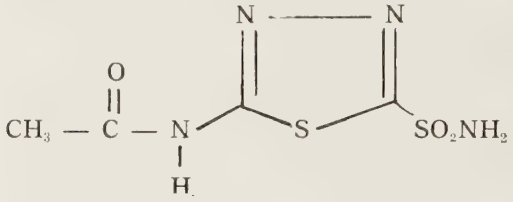
V. - CLASSIFICATION CHIMIQUE.

Dans les pages qui suivent, nous allons présenter, regroupés en plusieurs tableaux, les sulfamides diurétiques que nous avons étudiés. Ces tableaux seront établis de la façon suivante : tout d'abord, une formule générale commune au groupe avec mention des différentes substitutions possibles, puis, dans une première colonne la dénomination commune internationale du produit (D.C.I.), ensuite les différentes substitutions faites sur la formule générale, la dénomination scientifique de la substance et, dans une dernière colonne, nous indiquerons le nom français de la spécialité contenant le produit seul ou bien accompagné d'autres principes actifs non sulfamidés.

Les produits sont classés en trois groupes :

1°) **Les Thiadiazoles et Benzothiazoles :** (*voir Tableau I*)

Le premier dérivé synthétisé fut l'*Acétazolamide* :

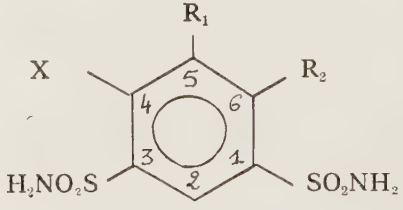


Nous trouvons ensuite dans ce même groupe son homologue supérieur : le *Méthazolamide* (Méthyl-3), puis l'*Ethoxzolamide*, non plus dérivé du Thiadiazole mais d'un noyau Thiazole. Il y a un alourdissement important de la molécule par adjonction d'un cycle benzénique portant une substitution éthoxy en 6.

2°) **Les dérivés halogénophénylsulfamides :** (*voir Tableau II*)

Dans ce second tableau, nous faisons figurer d'abord les dérivés disulfamidés, puis les monosulfamidés.

A) *Les dérivés disulfamidés :* Ils répondent tous à la formule générale suivante :

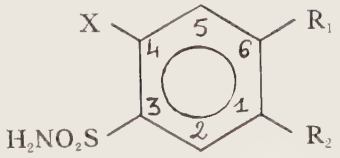


pour chacun d'entre eux X = Cl : ce sont tous des dérivés au moins monochlorés en 4.

Le premier et le plus simple est le *Cloténamide*, qui est monochloré et disulfamidé. Vient ensuite le *Diclofénamide*, possédant deux atomes de chlore en 4. 5. et les deux fonctions sulfonamide, et enfin l'homologue supérieur du Cloténamide : le *Disamide*, possédant une fonction méthyl en 6.

B) *Les dérivés monosulfamidés :* Ils forment un groupe assez hétérogène où l'on retrouve, par exemple, le *Chlorthalidon*, auquel on a souvent attribué une place à part en tant que dérivé de la Chlorthalidone, avec un noyau iso indoline (signalons que ce noyau iso indoline se retrouve également chez un autre dérivé : le *Cloréxolone*).

Tous ces corps nous ont semblé cependant avoir un point commun : ils sont mono-sulfamidés et peuvent être rattachés à la formule générale suivante :



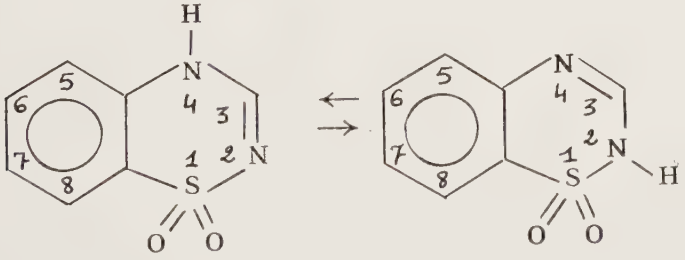
Par rapport aux dérivés disulfamidés, on remarque que, seul, le *Probénécide*, sur lequel d'ailleurs nous reviendrons, ne possède pas d'atome de chlore ; tous les autres dérivés sont des 4-chloro. Une fonction sulfonamide a été conservée en 3, alors que les deux substitutions R_1 et R_2 ne sont plus en 5 et 6 mais en 6 et 1. Dans ce groupe : le *Chlorthalidon* et le *Clopamide* sont substitués sur C_1 et pour le premier : R_2 correspond à un cycle iso indoline que nous avions déjà mentionné, pour le second à un cycle pipéridinique disubstitué. Le *Furosémide* possède, quant à lui, un cycle furfurylméthyl en R_1 et n'est pas substitué sur R_2.

Le *Clorexolone* est rattaché à la formule commune au groupe, par la présence sur le cycle benzénique d'un atome de chlore en ortho par rapport au groupement sulfonamidé, et le cycle est accolé à un noyau iso indoline substitué. Enfin, le *Probénécide* figure lui aussi dans cette rubrique bien qu'il dérive de l'acide parabenzoïque. On peut, en effet, le présenter comme un monosulfamidé substitué sur la fonction sulfamide par une chaîne di n propyl ; le radical R_2 n'est pas substitué et R_1 porte une fonction carboxylique.

3°) **Les dérivés du noyau benzothiadiazine dioxyde :**

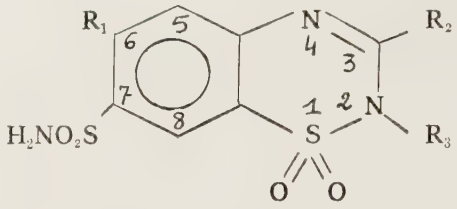
(voir Tableau III)

Ces dérivés forment un groupe très cohérent. Dans le noyau hétérocyclique, la double liaison est tautomérique ; elle se situe entre les positions 2.3 ou 3.4. Son emplacement peut être stabilisé respectivement en 2.3. ou 3.4. par substitution sur l'atome d'azote en position 4. ou en position 2. Cette double liaison étant le plus éloignée possible de la substitution.



Il existe, d'autre part, toute une série de composés où cette liaison fait défaut : ce sont les dérivés de l'Hydrochlorothiazide.

Nous présentons tout d'abord les dérivés de type chlorothiazidique.



Les substitutions vont se faire sur C_6 (c'est-à-dire en R_1), où, d'une manière générale, comme dans les dérivés saturés d'ailleurs, nous allons trouver un atome de chlore, et quelquefois un groupement trifluorométhyl. Dans tous ces dérivés, l'azote en 2 est libre. Dans ce groupe, nous trouvons comme chef de file : le *Chlorothiazide* dans lequel le noyau n'est pas substitué en R_2 et R_3, et un second dérivé différent du précédent par la substitution en R_1 : il est trifluoré et c'est le *Fluméthiazide*. Le dernier produit que nous rencontrons est le *Benzthiazide*, dérivé chloré, portant une substitution benzylthiométhyl et renfermant un atome de soufre dans la chaîne latérale.

Présentons maintenant les dérivés de type hydrochlorothiazidique.

C'est la famille la plus nombreuse des dérivés que nous avons étudiés. On note chez tous la présence en R_1 d'un atome de chlore, sauf chez l'*Hydrofluméthiazide* et le *Bendrofluméthiazide*, où cet atome est remplacé par un groupement trifluorométhyl, déjà rencontré chez le Fluméthiazide. Il y a encore un caractère commun à presque tous ces dérivés : l'azote en 2 (R_3) est libre, chez le *Méthyclothiazide* et le *Polythiazide* on note cependant la présence d'un groupement méthyl en R_3. Enfin, c'est en R_2 que se fixent les différentes substitutions ; il y a successivement un alourdissement de la chaîne (par exemple, passage du *Buthiazide* avec une substitution isobutyl au *Cyclopenthiazide* substitué par un noyau cyclopentyl). Chez deux dérivés, on peut signaler la présence d'un atome de soufre : il s'agit de l'*Altizide* et du *Polythiazide*. Dans le premier, on trouve une double liaison en bout de chaine et, de plus, dans le second, le groupement trifluorométhyl n'est plus fixé directement sur le noyau, mais en bout de chaine éthyl-thiométhyl.

Il est enfin à noter que le *Téclothiazide*, principe actif du Dépléil*, est synthétisé sous forme de sel de potassium, la salification portant sur la fonction sulfonamide.

La présentation des sulfamidés dans les tableaux suivants nous permettra d'étudier plus facilement le rapport entre la configuration chimique du produit et sa migration sur les chromatogrammes en fonction de la nature du solvant utilisé.

TABLEAU I

Thiadiazoles et Benzothiazoles sulfonamidés

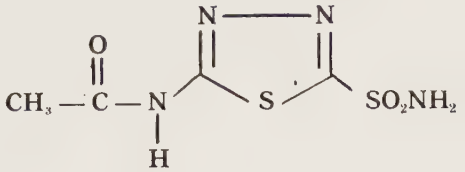
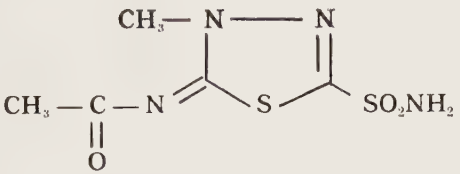
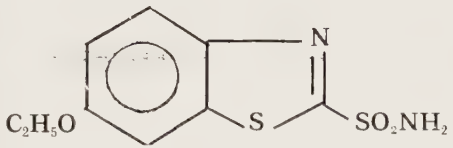
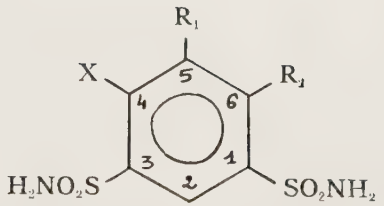
D. C. I.	*Formule*	*Dénomination scientifique*	*Spécialité*
ACÉTAZOLAMIDE		acétamido-2-sulfamoyl-5-thiadiazole-1.3.4.	Diamox Δ
MÉTHAZOLAMIDE		3-méthyl-4-acétylamino-2-thiadiazoline	Neptazane
ETHOXZOLAMIDE		6-éthoxy-2-benzothiazole-sulfonamide	Non synthétisé en France. Cardrase (U.S.A.)

TABLEAU II

Halogéno - Phénylsulfonamidés

DISULFONAMIDES

Formule générale

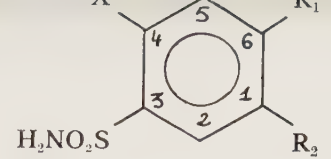


D. C. I.	R_1	R_2	*Dénomination scientifique*	*Spécialité*
CLOFÉNAMIDE	H	H	4-chlorobenzol-1.3-disulfonamide	Aquedux
DICLOFÉNAMIDE	Cl	H	4.5-dichlorobenzol-1.3-disulfonamide	Daranide
DISAMIDE	H	CH_3	Chloro-4-méthyl-6-benzène-disulfonamide-1.3.	Natirène 25

TABLEAU II (*Suite*)

MONOSULFAMIDES

Formule générale



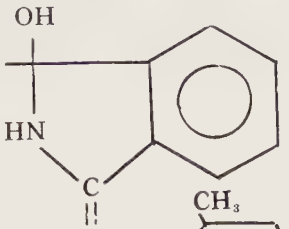
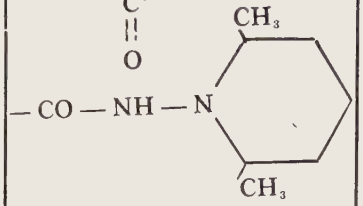
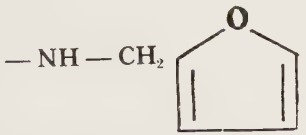
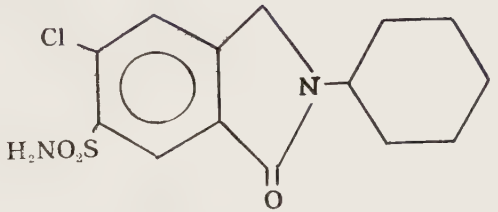
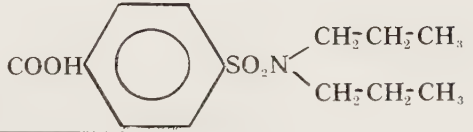
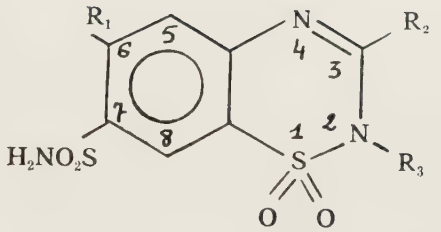
D. C. I.	X	R_1	R_2	*Dénomination scientifique*	*Spécialité*
CHLORTALIDON	Cl	H		1 oxo-3 (3' sulfamoyl-4' chlorophényl)-3-hydroxy-iso-indoline	Hygroton
CLOPAMIDE	Cl	H		Chloro-4-sulfamoyl 3 N (cis diméthyl-2.6-pipéridino) benzamide	Brinaldix
FUROSÉMIDE	Cl		H	Acide-4-chloro N(2-furyl-méthyl)-5-sulfamoyl-anthranilique	Lasilix
CLOREXOLONE	Cl			Oxo-1-cyclohexyl-2-chloro-5-sulfamoyl-6-iso-indoline	Flonatril
PROBÉNÉCIDE	H			Acide para (di-n-propyl-sulfamyl)-benzoïque	Bénémide

TABLEAU III

Dérivés du noyau Benzothiadiazine dioxyde

DERIVES DE LA CHLOROTHIAZIDE

Formule générale :

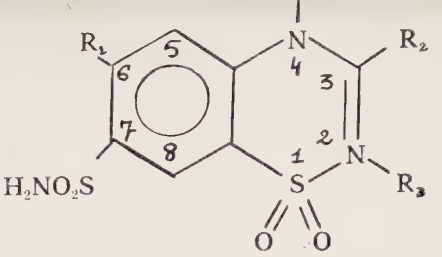


D. C. I.	R_1	R_2	R_3	*Dénomination scientifique*	*Spécialité*
CHLOROTHIAZIDE	Cl	H	H	Chloro-6-sulfamoyl-7-benzothiadiazine-1.2.4.-dioxyde-1.1.	Diurilix *Δ
FLUMÉTHIAZIDE	CF_3	H	H	trifluorométhyl-6-sulfamoyl-7-benzothiadiazine-1.2.4.-dioxyde-1.1.	Adémol
BENZTHIAZIDE	Cl	$-CH_2-S-CH_2-C_6H_5$	H	benzyl-thiométhyl-3-chloro-6-sulfamoyl-7-benzothiadiazine-1.2.4.-dioxyde-1.1.	Fovane

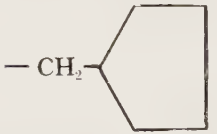
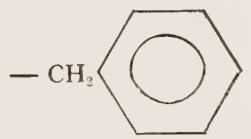
TABLEAU III (*suite*)

DERIVES DE L'HYDROCHLOROTHIAZIDE

Formule générale :



* Le produit figure à la Pharmacopée internationale 1967.
Δ Le produit fait l'objet d'une monographie au Codex 1965.

D. C. I.	R_1	R_2	R_3	*Dénomination scientifique*	*Spécialité*
HYDROCHLOROTHIAZIDE	Cl	H	H	chloro-6-sulfamoyl-7-dihydro-3.4.-benzothiadiazine-1.2.4.-dioxyde-1.1.	Esidrex *
TÉCLOTHIAZIDE	Cl	CCl_3	H	trichlorméthyl-3-chloro-6-sulfamoyl-7-dihydro-3.4.-benzothiadiazine-1.2.4.-dioxyde-1.1.	Dépléil
BUTHIAZIDE	Cl	$-CH_2-CH(CH_3)(CH_3)$	H	isobutyl-3-chloro-6-sulfamoyl-7-dihydro-3.4.-benzothiadiazine-1.2.4.-dioxyde-1.1.	Eunéphran
CYCLOPENTHIAZIDE	Cl		H	cyclopentyl-méthyl-3-chloro-6-sulfamoyl-7-dihydro-3.4.-benzothiadiazine-1.2.4.-dioxyde-1.1.	Navidrex
ALTIZIDE	Cl	$CH_2-S-CH_2-CH=CH_2$	H	(thia-2-pentène-4-yl)-3-chloro-6-sulfamoyl-7-dihydro-3.4.-benzothiadiazine-1.2.4.-dioxyde-1.1.	Aldactazine
MÉTHYCLOTHIAZIDE	Cl	CH_2Cl	CH_3	chloro-6-méthyl-2-chlorméthyl-3-sulfamoyl-7-dihydro-3.4-benzothiadiazine-1.2.4-dioxyde-1.1.	Enduron
POLYTHIAZIDE	Cl	$CH_2-S-CH_2-CF_3$	CH_3	chloro-6-méthyl-2-sulfamoyl-7-(trifluoro-2'-2'-éthyl-thiométhyl)-3-dihydro-3.4.-benzothiadiazine-1.2.4.-dioxyde-1.1.	Rénèse
HYDROFLUMÉTHIAZIDE	CF_3	H	H	trifluorométhyl-6-sulfamoyl-7-dihydro-3.4.-benzothiadiazine-1.2.4.-dioxyde-1.1.	Léodrine *
BENDROFLUMÉTHIAZIDE	CF_3		H	benzyl-3-trifluorométhyl-6-sulfamoyl-7-dihydro-3.4.-benzothiadiazine-1.2.4.-dioxyde-1.1.	Naturine *

CHAPITRE II

LES METHODES D'IDENTIFICATION PAR CHROMATOGRAPHIE

Avant d'aborder l'exposé des méthodes que nous avons retenues ou mises au point pour la séparation et l'identification des sulfamides diurétiques, il est important de donner un bref aperçu des méthodes précédemment décrites pour la résolution de ces problèmes.

I - TECHNIQUES DE SEPARATION.

Bien que la description des premiers sulfamides diurétiques remonte aux environs de 1950, il faut attendre une dizaine d'années pour voir apparaître les premières publications relatives à l'identification de certains dérivés par chromatographie.

1°) Les chromatographies sur papier :

La chromatographie sur papier fut tout d'abord utilisée ; c'est ainsi qu'en 1960 Ruggiéri (25) propose une chromatographie ascendante pour l'*Hydrochlorothiazide*. Il utilise deux solvants, l'un acide à base de butanol, acide acétique, eau ; l'autre alcalin à base de butanol, ammoniaque et eau. L'année suivante, Carlò et Coll. (2) proposent eux aussi une chromatographie ascendante en utilisant des solvants très voisins de ceux cités précédemment et séparent ainsi *Fluitran, Hygroton, Cloténamide* et *Nixeron*. En 1962, Kala (8) fait appel à un solvant plus particulier à base de toluène, xylène, dioxane, isopropanol et ammoniaque pour séparer le *Chlorothiazide* et l'*Hydrochlorothiazide*. C'est deux ans plus tard que Hentrich (7) publie une méthode beaucoup plus générale qui permet de séparer douze sulfamidés en faisant appel à un jeu de dix solvants et à une chromatographie bi-dimentionnelle. La même année, Kracmar (11) sépare en chromatographie ascendante l'*Acétazolamide* et le *Chlorothiazide* en utilisant un solvant polaire à base de butanol, acide acétique et eau. Citons enfin la publication de Adam et Lapière (1) qui font appel à deux solvants alcalins : l'un à base de butanol, ammoniaque et eau. l'autre renfermant pentanol, ammoniaque et eau.

2°) **Les chromatographies sur couche mince** (C.C.M.)

Cette dernière publication nous permet d'ailleurs de faire la transition avec les méthodes de C.C.M. puisque ces mêmes auteurs parlent dans leur article de cette technique. Ils mettent en œuvre soit un gel d'alumine, soit un gel de silice. Les solvants de développement utilisés étant respectivement l'acétate d'éthyle pour le premier support et un mélange acétate d'éthyle - benzène pour le second. En 1965, Neidlein et Coll. (15) reprenant le solvant de Kala font une C.C.M. sur silicagel fluorescent. Mentionnons encore, en 1966, l'article de Kiger (9) qui utilise trois solvants : l'un acide, l'autre neutre et le dernier alcalin, le support utilisé étant le silicagel. Enfin, en 1968, Smith et Herman (27) réalisent une C.C.M. après extraction des sulfamides à partir des préparations galéniques, le support étant du silicagel avec ou sans plâtre et le solvant de développement un mélange d'acétate d'éthyle et de benzène. Nous citerons en terminant deux articles de Gawrych et Coll. (6) qui traitent de l'identification par chromatographie de quelques dérivés sulfamidés. Ces auteurs utilisent soit la chromatographie sur papier en faisant alors appel à un solvant alcalin : butanol, ammoniaque, ou à un solvant neutre : butanol saturé d'eau, soit la C.C.M. en utilisant comme support du kieselgur G et des solvants variés tels que : Cydohexane - acétone, benzène - éther éthylique - acétone. Ces auteurs utilisent enfin un solvant alcalin complexe lors du développement sur un support constitué par du silicagel G.

II. - **TECHNIQUES DE REVELATION.**

Il est évident que la base retenue pour le choix des médicaments à séparer et à identifier étant en quelque sorte partiellement pharmacodynamique, nous serons amené à étudier des molécules parfois très différentes. Il est donc douteux de rencontrer un réactif permettant de révéler l'ensemble de ces produits. Nous avons pu constater dans la littérature que la majeure partie des auteurs fait appel à l'observation des chromatogrammes ou des chromatoplaques en lumière ultra-violette, ainsi Carlò et Coll. (2), Kracmar (11), Adam (1), Neidlein (15), Gawrych (6) opèrent en ultraviolet. Quelques auteurs font appel aux réactifs généraux : par exemple, Kala (8) utilise un bain de nitrate mercurique, Hentrich (7) le réactif de Folin, Kiger (9) les vapeurs d'iode et Smith (27) une pulvérisation à base de naphtoquinone sulfonate de sodium en milieu tamponné par le borax.

Nous avons été amené à essayer systématiquement les différents réactifs de révélation proposés. Nous avons abandonné le nitrate mercurique car nous considérons qu'il est assez dangereux de pulvériser même sous une hôte une solution saturée de ce dérivé toxique. Le réactif de Folin ne nous a pas donné entièrement satisfaction, quant aux vapeurs d'iode préconisées par Kiger (9), les plaques exposées à de telles vapeurs devenaient entièrement jaunes et il était impossible de distinguer les spots dûs aux sulfamides. Nous avons donc été conduit à retenir, comme l'avait fait Valimamod (29),

les plaques fluorescentes. La technique de révélation est extrêmement simple. La couche imprégnée d'une substance fluorescente donne à 254 mμ une fluorescence jaune uniforme qui absorbe le rayonnement ultraviolet. Le sulfamidé éteint cette fluorescence à son niveau, et le spot apparaît sous forme d'une tache sombre qui se distingue relativement bien au moment de l'examen en lumière de Wood. Il est indispensable de repérer avec une pointe fine le contour de la zone sombre au moment même de l'examen. La presque totalité des chromatographies que nous avons effectuées pour notre thèse ont été lues en retenant cette méthode de révélation. Dans le courant de l'année 1968, paraissait l'article de Smith (27). Cet auteur utilisait comme réactif de révélation une solution tamponnée de naphtoquinone sulfonate de sodium à 0,1 p. 100 dans du borax lui-même à 1 p. 100 en solution aqueuse. Les différents sulfamides apparaissent colorés en rose. Cette méthode est incontestablement plus intéressante que l'observation en ultraviolet, quelques-unes de nos chromatoplaques ont été révélées par cette technique que nous aurons l'occasion de décrire plus en détail dans un chapitre ultérieur.

DEUXIEME PARTIE

MISE AU POINT D'UNE METHODE DE SEPARATION

CHAPITRE PREMIER

CHOIX DU SOLVANT DE DEVELOPPEMENT

Lors de la mise au point d'une méthode d'identification par C.C.M., le choix du support nécessaire à la chromatographie d'adsorption est relativement aisé puisque l'analyste ne dispose en fait que de deux supports classiques : le gel d'alumine et le gel de silice. Nous avons été amené rapidement à retenir le gel de silice. Pour des raisons que nous avons précisées dans la première partie, nous avons utilisé le *Kieselgel D.S.F. 5.*

L'étude des solvants de développement nous a, par contre, retenu beaucoup plus longtemps. Nous résumerons brièvement les différents essais en les classant par solvants simples, mélanges binaires, mélanges ternaires et mélanges quaternaires.

I. - SOLVANTS SIMPLES.

Dans cette catégorie, on peut grossièrement les classer en solvants apolaires et solvants polaires.

1°) Les solvants apolaires :

Les solvants essayés sont : tétrachlorure de carbone, cyclohexane, benzène, toluène, éther de pétrole, chloroforme, chlorure de méthyle, dichloréthane. Comme on pouvait s'y attendre, les sulfamides étudiés restent sur la ligne de départ.

2°) Les solvants polaires :

Nous avons retenu dans cette catégorie des alcools, une cétone, des esters et une amide.

a) ALCOOLS.

Nous avons essayé successivement : méthanol, éthanol, butanol, propanol et amylol. Dans ce cas, les sulfamides migrent mais les Rf se trouvent compris dans des limites assez étroites qui ne permettent pas d'envisager une bonne séparation ; de plus, certaines migrations sont lentes et très souvent les spots obtenus sont diffus et en comète.

b) CETONE.

La méthyl éthyl cétone, seule, conduit à des résultats assez voisins.

c) ESTERS.

Les esters, déjà plus polaires que les solvants précédents, permettent une meilleure séparation, ainsi la gamme des Rf s'étale avec l'acétate de méthyle entre 0,40 et 0,75 ; toutefois, étant donné que nous nous proposons d'étudier une vingtaine de sulfamides, on conçoit qu'il y a peu de différence entre les Rf et que ce solvant seul ne permet pas de résoudre le problème. L'acétate d'éthyle s'est avéré plus intéressant, la migration est brève, la séparation est bonne. Rappelons d'ailleurs que ce solvant a été utilisé par Adam et Lapière (1) qui séparent ainsi huit dérivés benzothiadiaziniques.

d) AMIDE.

La diméthylformamide (D.M.F.) est un solvant excessivement polaire et son utilisation nous a permis de fermer le cycle de nos investigations puisqu'un développement avec ce dérivé entraîne une migration en front de solvant.

Ces essais systématiques ne nous ont pas conduit, comme nous nous y attendions d'ailleurs, à retenir un solvant simple. Ils dégrossissent cependant déjà le travail en permettant de prévoir que des mélanges à base de solvants polaires et apolaires offriront la possibilité d'une séparation plus intéressante.

II. - MELANGES BINAIRES.

Nous avons classé ces derniers en : solvants neutres, solvants acides et solvants alcalins ; nous avons ainsi la possibilité d'explorer tous les domaines du développement puisque nous pouvons jouer sur la polarité et les possibilités d'ionisation ou de recul d'ionisation des molécules à séparer.

a) SOLVANTS NEUTRES :

Aucune règle particulière n'a été suivie lors de l'essai de tels mélanges, aussi présenterons-nous les résultats de ces investigations sous forme de tableaux avec, dans la première colonne : la nature du solvant ; dans la deuxième : les proportions, et dans la troisième : les observations relatives aux séparations obtenues. Lorsque la composition qualitative d'un solvant a été retenue avec des proportions différentes, nous les faisons figurer successivement.

Dans cette catégorie de solvants, quelques-uns ont été retenus pour des essais systématiques de détermination de Rf, nous leur attribuons dans ce cas une lettre générique qui nous permettra de les retrouver.

TABLEAU I

Solvants binaires neutres

Nature du solvant	*Proportions en ml*	*Observations*
Chlorure méthyle Acétate méthyle	40 160	séparation insuffisante 0,40<Rf<0,70
Acétate de méthyle D.M.F.	190 10	0,50<Rf<0,75
Acétate d'éthyle *D.M.F.*	*190* *10*	bonne séparation ; le solvant a été retenu, c'est le *Solvant A.*
Acétate d'éthyle *Toluène*	*100* *100*	migration basse mais bonne séparation ; ce mélange constitue le *Solvant C.*
Méthyléthylcétone D.M.F.	190 10	0,55<Rf<0,70
Méthanol *Chloroforme*	*20* *200*	migration basse, mais très bonne séparation ; ce solvant a été retenu : c'est le *Solvant E.*
Méthanol Hexane	160 175 40 25	0,52<Rf<0,78
Ethanol Chloroforme	160 40	0,45<Rf<0,70
Ethanol Toluène	175 25	0,40<Rf<0,68
Propanol D.M.F.	180 20	0,60<Rf<0,85
Amylol *Chloroforme*	*180* *20*	bonne répartition des spots mais migration lente. Ce mélange constitue le *Solvant D.*

De l'étude de ce tableau, il ressort que quatre solvants permettent d'envisager des possibilités de séparation :

— Le SOLVANT A : acétate d'éthyle - D.M.F. (190-10) offre l avantage d'une migration rapide environ trente minutes pour 13 cm. La répartition des spots est très satisfaisante, aussi avons-nous réalisé des essais systématiques de migration que nous présenterons dans le chapitre suivant. Nous avons retenu ce mélange comme solvant de développement indispensable à notre procédé d'identification.

— Le SOLVANT C : acétate d'éthyle - toluène (100 - 100) donne des migrations minimes Rf maximum = 0,49), mais les spots sont très distincts et restent petits ; aussi présenterons-nous pour ce solvant des essais systématiques. Ce solvant n'a cependant pas été retenu comme indispensable.

— Le SOLVANT D : amylol - chloroforme (180 - 20) donne certes des migrations lentes, des taches plus ou moins diffuses, mais une séparation relativement bonne des spots. Nous ferons également figurer les résultats des essais systématiques effectués avec un tel solvant de développement.

— Le SOLVANT E : méthanol - chloroforme (20 - 200) était proposé par Kiger (9). Les migrations sont faibles, les séparations bonnes et les spots petits et bien délimités ; des essais systématiques ont été faits, ce solvant représente l'un des trois (avec le solvant A déjà cité et le solvant B que nous allons envisager) que nous avons retenus définitivement.

b) SOLVANTS ACIDES.

Nous avons utilisé comme agent d'acidification l'acide formique. Cet acide a été ajouté à deux alcools : le propanol et le butanol, et à un ester : l'acétate d'éthyle. Les spots correspondant aux différents sulfamidés sont relativement groupés, ce qui ne permet pas d'envisager une séparation. Nous donnons, à titre d'indication, les compositions quantitatives des solvants essayés :
propanol - acide formique (190-10)
butanol - acide formique (190-10)
acétate d'éthyle - acide formique (195-5) ; (190-10); (185-15) ; (180-20).

Il convient de signaler, dans ce dernier cas, que la migration des spots (toujours groupés) se retrouve d'autant plus haute que l'on ajoute plus d'acide formique.

c) SOLVANTS ALCALINS.

Nous avons utilisé comme agent d'alcalinisation, pour leur réalisation, de l'ammoniaque 12 N et de l'hexaméthylphosphorotriamide (hexamétapol). Ces deux produits ont été mélangés, pour le premier, avec un alcool : l'amylol ; pour le second, avec un ester : l'acétate d'éthyle. Nous présentons ci-dessous les mélanges réalisés :
amylol - ammonique 12 N (180-20)
acétate d'éthyle - hexamétapol (190-10) ; (185-15) ; (180-20).

Dans le cas du premier mélange, la migration des différents sulfamides déposés s'est révélée très insuffisante ($O<RF<0,25$). Dans le second cas, les mélanges à base d'hexamétapol ont montré à la lecture en ultraviolet la présence d'un front intermédiaire au niveau du front de migration de ce solvant.

En définitive, aucun de ces mélanges alcalins ne nous a paru assez intéressant pour être retenu.

III. - MELANGES TERNAIRES.

Comme dans le cas des mélanges binaires, nous avons joué sur la différence de polarité des solvants et sur leur caractère neutre, acide ou alcalin. Nous avons donc trouvé ici un éventail très vaste pour nos investigations.

a) SOLVANTS NEUTRES.

Nous présentons dans le tableau suivant quelques-uns de nos essais :

TABLEAU II

Solvants ternaires neutres

Nature du solvant	*Proportions en ml*			*Observations*
Tétrachlorure de carbone	155	160		les spots restent groupés,
Méthanol	30	20		migration basse
D.M.F.	15	20		0,20<Rf<0,50
Acétate de méthyle	125	160	180	
Chloroforme	50	30	10	0,55<Rf<0,80
D.M.F.	25	10	10	
Acétate de méthyle	140	160		
Chlorure de méthyle	40	20		0,53<Rf<0,78
D.M.F.	20	20		
Acétate d'éthyle	130			
Méthyléthyl-cétone	40			0,50<Rf<0,85
Amylol	20			

Après plusieurs essais de ces solvants neutres ternaires, nous nous sommes rapidement orienté vers la composition d'un solvant acide ou alcalin ; en effet, les quatre premiers mélanges étudiés de façon systématique étaient des solvants neutres, et il nous a paru que pousser plus avant nos recherches dans la composition d'un mélange ternaire, également neutre, n'aurait que fort peu d'intérêt et ne donnerait que très peu de différence de Rf pour un même produit par rapport aux autres, dans ce nouveau solvant. C'est bien ce que nous montre le tableau II : la valeur des Rf des produits

varie peu, et la migration de chaque dérivé se trouve toujours augmentée ou diminuée de la même façon ; la migration globale ne dépendant que de la polarité du solvant utilisé.

b) SOLVANTS ACIDES.

Les solvants acides binaires ne nous avaient donné aucun résultat réellement satisfaisant, nous avons cependant voulu tout de même étudier ce type de mélange ternaire. Nous donnons, à titre indicatif, la composition de quelques-uns des solvants réalisés : acétate d'éthyle - toluène - acide formique (150-40-10) ; (150-35-15) acétate d'éthyle - chlorure de méthyle - acide formique (150-40-10) ; (145-40-15) ; (155-40-5) ; (160-30-10).

Comme nous nous y attendions, aucun de ces mélanges n'a paru digne d'être retenu. En effet, pour la première série, comme pour la seconde, les produits migrent haut et la répartition des Rf est tout à fait insuffisante pour permettre une séparation utilisable.

c) SOLVANTS ALCALINS.

Comme agent d'alcalinisation, nous avons abandonné l'ammoniaque 12 N qui ne nous avait pas donné satisfaction, et nous avons ici utilisé la pyridine et l'hexamétapol. Les mélanges réalisés figurent dans le tableau III.

TABLEAU III

Solvants ternaires alcalins

Nature du solvant	*Proportions en ml*			*Observations*
Benzène	160	150	170	Certains produits migrent en front de solvant : par exemple : acétazolamide, diclofénamide ...
Butanol	25	30	20	
Pyridine	15	20	10	
Acétate d'éthyle	115	120	124	
Chlorure de méthyle	70	70	70	
Hexamétapol	15	10	6	
Acétate d'éthyle	160	*165*	180	Les proportions figurant en caractères italiques sont celles qui ont été retenues pour le *Solvant B*.
Chlorure de méthyle	30	*20*	10	
Hexamétapol	10	*15*	10	

De l'étude de ce tableau, il ressort qu'un seul solvant a permis d'envisager une séparation possible des sulfamides.

— Le SOLVANT B donne au cours de la migration une démixion avec front intermédiaire d'hexamétapol qui se révèle à la lecture en ultraviolet (comme nous avons eu l'occasion de le signaler à propos d'un solvant alcalin binaire) ; ce solvant permet cependant une bonne séparation des différents produits. Après avoir fait l'objet d'une étude systématique, il a été définitivement retenu et il fait partie du groupe des trois solvants (A - E - B) indispensables à notre méthode d'identification. Il faut cependant signaler dès à présent que la reproductibilité des Rf obtenus est moins grande que dans le cas des deux autres solvants de développement, mais nous aborderons ce problème plus en détail dans le chapitre suivant où nous présenterons les essais systématiques des solvants retenus.

IV. - MELANGES QUATERNAIRES.

En utilisant les différentes possibilités qui nous étaient offertes avec les solvants dont nous disposions, nous avons voulu réaliser quelques mélanges quaternaires, mais rapidement nous nous sommes aperçu que ceux-ci n'offraient que bien peu d'intérêt. Pour faire une étude logique de la migration des produits dans ces mélanges, il nous aurait fallu faire varier en proportions différentes chacun des quatre solvants successivement et cela s'avérait très long.

D'autre part, nous avions déjà à notre disposition un certain nombre de solvants qui permettaient une identification commode ; c'est pourquoi, après avoir réalisé une dizaine de mélanges, nous n'avons pas poussé plus avant nos investigations. Nous ne ferons pas figurer ici la liste de ces solvants qui n'offrent que bien peu d'intérêt soit parce qu'il y a très peu de différence entre les Rf, soit parce que de nombreux dérivés migrent en front de solvant.

En définitive, nous avons retenu trois solvants de développement indispensables que nous rappelons :

— le SOLVANT A, mélange binaire neutre : acétate d'éthyle-D.M.F. (190-10),

— le SOLVANT E, mélange binaire neutre : méthanol - chloroforme (20-200),

— le SOLVANT B, mélange ternaire alcalin : acétate d'éthyle - chlorure de méthyle - hexamétapol (165-20-15).

Les autres solvants, dotés d'une lettre générique, à savoir le SOLVANT C : acétate d'éthyle - toluène (100-100) et le SOLVANT D : amylol - chloroforme (180-20), tous deux mélanges binaires neutres, n'ont été utilisés que pour confirmer une identification délicate lorsqu'on ne fait appel qu'aux trois solvants A - E et B.

On peut s'étonner de ne pas voir figurer dans la liste des trois solvants principaux un solvant acide. Il eût été plus logique, et

c'était là notre idée première, d'utiliser un solvant acide, un solvant neutre et un solvant alcalin. Les essais que nous avons rapportés à propos de l'usage des solvants acides ont montré que l'augmentation de l'acidité ne produisait pas, en fait, un accroissement des possibilités de séparation, mais uniquement une augmentation globale de la mobilité de tous nos sulfamidés. C'est pourquoi nous n'avons retenu que deux solvants neutres, et un alcalin. Dans le cas des solvants neutres, les différences de migration d'un type de développement à l'autre ne sont donc dues qu'à une différence de polarité dans la nature du solvant.

CHAPITRE II

ESSAIS SYSTEMATIQUES DES SOLVANTS DE DEVELOPPEMENT RETENUS

Nous allons présenter dans les pages qui suivent les essais systématiques réalisés à partir des cinq solvants de développement que nous avons retenus. Les essais ont été conduits de la manière suivante : pour chaque solvant et pour chaque sulfamidé, nous avons réalisé douze chromatographies en déposant sur chaque plaque onze spots. Un essai de migration est donc conduit dans trois cuves de développement différentes avec un solvant neuf lors de chaque essai. Nous indiquons ci-dessous les modes opératoires.

I. - MODE OPERATOIRE.

1°) Préparation du gel :

Pour la réalisation des plaques de chromatographie tout au long de nos travaux, nous avons utilisé le matériel fourni par la Maison DESAGA, qui comprend : un étaleur et un support pouvant présenter cinq plaques à l'étalement (les proportions que nous donnerons seront donc valables pour la réalisation de cinq chromatoplaques).

Pour les raisons que nous avons données précédemment, nous avons employé le KIESELGEL D.S.F. 5 de CAMAG. Pour la préparation du gel, on doit :

— peser 36 g. Kieselgel D.S.F. 5.

— ajouter 60 ml. d'eau,

— mélanger soigneusement une à deux minutes jusqu'à l'obtention d'une pâte fluide très homogène. (On peut utiliser soit un mixer de type « ultra-turax », soit, comme nous l'avons fait, un simple agitateur).

Pour la réalisation pratique des chromatoplaques, nous pensons qu'il est tout à fait inutile de détailler le mode opératoire, celui-ci étant parfaitement expliqué dans le Guide de travaux pratiques de Chimie Analytique de troisième année (18).

2°) **Activation :**

La méthode utilisée pour notre analyse est une chromatographie d'adsorption qui doit donc être réalisée sur un support activé. Pour ce faire, les plaques étant nappées uniformément de gel, on laissera ce dernier se solidifier à la température ambiante (environ quinze minutes), puis on placera les plaques dans une étuve à 120° pendant une demi-heure, on les portera ensuite dans un exsiccateur garni d'anhydride phosphorique, pour les laisser refroidir. Les chromatoplaques non utilisées dans les 24 heures devront être réactivées à l'étuve à 120°. On peut pour plus de commodité les laisser en permanence dans l'étuve pour ne les sortir qu'au moment du besoin, elles se conservent alors très bien et peuvent être utilisées jusqu'à une semaine après leur étalement sans noter de modification de Rf.

3°) **Préparation des solutions de référence :**

D'après la thèse de Raimondi (22) qui dissolvait ses sulfamides antibactériens dans de l'eau ammoniacale, nous avons essayé nous aussi de dissoudre nos produits en milieu alcalin. Nous avons abandonné cette idée car de nombreux produits nécessitaient une grande quantité d'ammoniaque 12 N pour une dissolution imparfaite. Nous nous sommes alors orienté vers des solvants organiques : l'éthanol d'abord qui, comme le butanol par la suite, ne nous a pas permis de mettre en solution tous les dérivés. Nous avons enfin retenu l'acétone qui se révèle un solvant satisfaisant pour tous nos sulfamides. Nous avons utilisé dans tous les cas des solutions à 1 g. pour 1 000 ml. (*soit* 1 µg. *par microlitre*).

Cas du Téclothiazide : On doit réserver une place à part au Téclothiazide qui se présente sous forme de sel de potassium. Pour réaliser une solution acétonique de ce corps, nous avons dû :

— dissoudre le produit dans l'eau,

— déplacer le sel par une à deux gouttes d'acide chlorhydrique concentré,

— extraire par de l'éther éthylique,

— faire évaporer à sec,

— peser le poids de produit sec pour réaliser une solution à 1 p. 1000 dans l'acétone.

La conservation des solutions acétoniques de sulfamides ne demande aucun soin particulier si ce n'est un bouchage étanche du flacon. On peut signaler que toutes les solutions se conservent au moins un à deux mois et que les premières qui se sont partiellement modifiées ont été celles des produits contenant du fluor dans la molécule. En effet, après trois mois de conservation, on a pu noter pour le Bendrofluméthiazide, le Fluméthiazide, un jaunissement de la solution, la valeur du Rf du produit ne semblait cependant pas avoir été modifiée de façon notable. Pour plus de sécurité cependant, tous les mois, nous avons renouvelé l'ensemble de nos étalons.

4°) **Le dépôt :**

Le dépôt des solutions acétoniques a toujours été réalisé avec des micropipettes du type « Lambda-pettes » nous permettant de déposer 2 µl de l'étalon. Ceci correspond à 2 µg de produit par spot. Nous avons essayé au début de déposer le volume total en une fois, mais pour certains produits (Méthazolamide - Clorexolone), après la migration, la tache se révélait très diffuse, aussi avons-nous préféré déposer en deux ou trois fois sur le même point les deux microlitres à ensemencer, les taches étant alors plus petites et se voyant beaucoup mieux à la lecture en ultra-violet. La solution déposée sèche immédiatement, on peut donc tout de suite introduire la plaque dans la cuve de développement, celle-ci étant au préalable saturée de vapeurs de solvant pendant une heure, après avoir été préparée comme il est indiqué dans le Guide de travaux pratiques déjà mentionné.

5°) **Développement :**

Pour favoriser une meilleure séparation des produits, nous avons choisi de faire migrer nos solvants sur une hauteur de 13 cm. environ plutôt que 10, comme il avait été fait jusque-là. Le temps de développement mis par chaque solvant est assez bref : 30 minutes environ pour le solvant A — 50 pour le B — 50 également pour le C — 60 pour le solvant E dans le cas du solvant D, il faut compter environ 2 heures et demie, comme nous l'avions déjà mentionné.

6°) **Observations :**

Comme nous avons eu l'occasion de le dire dans un chapitre précédent, nous avons retenu deux types d'observations différents :

A) *En U. V. :* Lorsque le front de solvant a atteint la ligne de repérage des *13* cm. (il se peut parfois que le front ne soit pas exactement horizontal, dans ce cas, on doit repérer sa position avec une pointe fine), les chromatoplaques sont retirées immédiatement des cuves de développement, et on fait évaporer le solvant sous courant d'air chaud. La lecture se fait ensuite sous une lampe à ultra-violets d'abord à 254 mµ. Les taches apparaissent violettes sur un fond jaune uniforme. Pour une même quantité de produit ensemencé, l'intensité de la tache peut être différente selon le sulfamide déposé : par exemple, le Disamide, le Clofénamide, le Diclofénamide et l'Hydrochlorothiazide se voient peu ; par contre, le Buthiazide, l'Ethoxzolamide se voient très nettement. Il est ensuite intéressant de lire la même plaque sous la longueur d'onde de 350 mµ. Les dérivés fluorescents se révèlent alors sous forme de tache plus ou moins bleutée qui se distingue sur un fond violet foncé uniforme.

Les dérivés fluorescents sont : le Bendrofluméthiazide et l'Hydrofluméthiazide. Les spots n'apparaissant qu'en lumière de Wood, il est nécessaire de les repérer en les entourant d'un trait tracé sur le gel au moyen d'une pointe très fine. Les chromatoplaques peuvent cependant être lues plusieurs jours après la migration.

B) *Méthode de Révélation dans le visible :* Nous avons déjà mentionné dans la première partie la technique de révélation de Smith (27), que nous avons également utilisée. Elle consiste à pulvériser sur la chromoplaque une solution tamponnée de Naphtoquinone sulfonate de sodium à 0,1 p. 100 en solution dans du borax, lui-même à 1 p. 100 ; la plaque est ensuite placée pendant au moins 10 minutes dans une étuve à 100°. Les spots apparaissent alors en rose orangé, seul le Bendrofluméthiazide prend une teinte distincte des autres : la tache est plus mauve. Pour cette méthode de révélation, il est évident que la lecture en ultra-violet est tout à fait inutile.

7°) **Calcul des Rf :**

Les Rf sont calculés par la méthode classique et représentent le rapport de la distance parcourue par le spot sur la distance parcourue par le front du solvant. Les Rf que nous donnons pour chaque produit dans les différents solvants sont des Rf moyens calculés à partir de douze migrations distinctes.

II. - ETUDE STATISTIQUE DES RESULTATS OBTENUS.

Dans les tableaux I à V, nous faisons figurer la valeur des Rf moyens pour chaque produit, puis l'écart type σ calculé d'après la formule :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma\,(X - M)^2}{N - 1}}$$

où X est la valeur du Rf.

M la valeur moyenne des 12 Rf calculés pour un même produit,

N le nombre d'essais.

Enfin, dans une dernière colonne, nous donnons la valeur du coefficient de dispersion C % :

$$C\,\% = \frac{100\,\sigma}{M}$$

Le pourcentage exprimé par ce coefficient ne sera intéressant à considérer que pour les valeurs de M supérieures à 0,20 ou 0,25 ; dans le cas contraire, M étant très faible, σ nous renseignera beaucoup mieux sur la fidélité de la méthode.

Enfin, dans le tableau VI, nous avons pensé qu'il serait intéressant de faire figurer pour tous les sulfamides la valeur respective des Rf dans chacun des cinq solvants, ceci ayant pour but de montrer immédiatement les possibilités de séparation entre les différents produits.

TABLEAU I

Acétate d'éthyle - D.M.F. (190-10)

Sulfamides	Rf	σ	C %
Furosémide	0,05	0,030	60
Probénécide	0,10	0,034	34
Fluméthiazide	0,17	0,042	25
Chlorothiazide	0,21	0,016	7,8
Acétazolamide	0,42	0,030	7,1
Hydrochlorothiazide	0,46	0,026	5,6
Clopamide	0,49	0,039	7,7
Méthazolamide	0,51	0,029	5,6
Chlorthalidon	0,56	0,034	6
Benzthiazide	0,59	0,024	4
Hydrofluméthiazide	0,60	0,027	4,5
Méthyclothiazide	0,64	0,031	4,8
Clorexolone	0,69	0,054	7,8
Disamide	0,74	0,042	5,7
Clofénamide	0,75	0,036	4,8
Buthiazide	0,77	0,042	5,5
Polythiazide	0,77	0,035	4,5
Cyclopenthiazide	0,79	0,038	4,8
Altizide	0,82	0,049	5,9
Téclothiazide	0,83	0,044	5,4
Diclofénamide	0,84	0,037	4,4
Ethoxzolamide	0,85	0,040	4,7
Bendrofluméthiazide	0,86	0,041	4,7

TABLEAU II

SOLVANT B :
Acétate d'éthyle - Chlorure de méthyle - Héxamétapol (165-20-15)

SULFAMIDES	Rf	σ	C %
Furoméside	0	0	0
Probénécide	0,03	0,032	107
Chlorothiazide	0,03	0,029	98
Fluméthiazide	0,05	0,031	82
Hydrochlorothiazide	0,30	0,023	7,5
Acétazolamide	0,31	0,019	6
Benzthiazide	0,34	0,106	31
Clopamide	0,34	0,021	6,1
Méthazolamide	0,35	0,017	4,9
Chlorthalidon	0,36	0,023	6,5
Hydrofluméthiazide	0,44	0,030	6,8
Téclothiazide	0,48	0,033	7
Clorexolone	0,49	0,021	4,3
Méthyclothiazide	0,52	0,041	7,9
Clofénamide	0,56	0,024	4,2
Disamide	0,61	0,028	4,5
Polythiazide	0,62	0,021	3,5
Buthiazide	0,64	0,021	3,3
Altizide	0,66	0,022	3,4
Diclofénamide	0,68	0,017	2,5
Cyclopenthiazide	0,68	0,022	3,2
Exthoxzolamide	0,71	0,023	3,3
Bendrofluméthiazide	0,77	0,016	2,0

TABLEAU III

SOLVANT C : Toluène - Acétate d'éthyle (100-100)

SULFAMIDES	Rf	σ	C %
Furosémide	0	0	0
Chlorothiazide	0,017	0,007	44
Probénécide	0,02	0,005	26
Fluméthiazide	0,03	0,015	52
Acétazolamide	0,04	0,014	35
Hydrochlorothiazide	0,05	0,010	20
Clopamide	0,07	0,015	21,5
Chlorthalidon	0,08	0,012	16
Hydrofluméthiazide	0,11	0,012	11,6
Benzthiazide	0,11	0,021	20
Méthazolamide	0,11	0,013	12
Méthyclothiazide	0,15	0,018	12
Clorexone	0,17	0,014	8,3
Clofénamide	0,19	0,039	20,5
Disamide	0,21	0,017	8,2
Buthiazide	0,22	0,026	12,1
Polythiazide	0,22	0,044	20
Cyclopenthiazide	0,25	0,016	6,3
Altizide	0,25	0,028	11,3
Téclothiazide	0,26	0,060	23
Diclofénamide	0,34	0,029	5,8
Bendrofluméthiazide	0,37	0,020	7,8
Ethoxzolamide	0,46	0,022	4,9

TABLEAU IV

SOLVANT D : Alcool amylique - Chloroforme (180-20)

SULFAMIDES	Rf	σ	C %
Furosémide	0,06	0,016	28,8
Probénécide	0,09	0,015	16,7
Chlorothiazide	0,23	0,042	18,2
Méthazolamide	0,29	0,039	13,5
Acétazolamide	0,33	0,030	9,2
Fluméthiazide	0,42	0,067	16
Hydrochlorothiazide	0,49	0,017	3,5
Clopamide	0,52	0,028	5,5
Clorexolone	0,61	0,018	3
Clofénamide	0,63	0,033	5,2
Chlorthalidon	0,66	0,021	3,2
Disamide	0,68	0,023	3,5
Méthyclothiazide	0,69	0,028	4,1
Hydrofluméthiazide	0,71	0,010	1,4
Benzthiazide	0,72	0,040	5,6
Téclothiazide	0,73	0,051	7
Ethoxzolamide	0,76	0,023	3,1
Polythiazide	0,79	0,023	2,9
Altizide	0,79	0,017	2,2
Buthiazide	0,81	0,025	3,1
Diclofénamide	0,82	0,020	2,4
Cyclopenthiazide	0,85	0,019	2,2
Bendrofluméthiazide	0,87	0,028	3,3

TABLEAU V

SOLVANT E : Méthanol - Chloroforme (20-200)

SULFAMIDES	Rf	σ	C %
Furosémide	0	0	0
Chlorothiazide	0,03	0,019	64
Hydrochlorothiazide	0,04	0,012	31
Fluméthiazide	0,05	0,014	28
Probénécide	0,05	0,011	23,6
Hydrofluméthiazide	0,08	0,015	20
Acétazolamide	0,09	0,011	12
Disamide	0,10	0,018	18,5
Clofénamide	0,12	0,021	18
Chlorthalidon	0,12	0,011	9,3
Buthiazide	0,12	0,022	18,8
Diclofénamide	0,12	0,023	19,2
Cyclopenthiazide	0,14	0,025	17,8
Téclothiazide	0,14	0,024	17,3
Méthyclothiazide	0,15	0,018	12,2
Benzthiazide	0,18	0,014	8
Altizide	0,19	0,023	12,4
Bendrofluméthiazide	0,21	0,027	12,8
Polythiazide	0,22	0,019	8,7
Méthazolamide	0,25	0,030	12,1
Clofénamide	0,26	0,040	16
Clorexolone	0,37	0,033	8,9
Ethozolamide	0,51	0,040	7,8

TABLEAU VI

Sulfamides	Valeur des Rf dans les Solvants				
	A	B	C	D	E
Furosémide	0,05	0	0	0,06	0
Probénécide	0,10	0,03	0,02	0,09	0,05
Fluméthiazide	0,17	0,05	0,03	0,42	0,05
Chlorothiazide	0,21	0,03	0,017	0,23	0,03
Acétazolamide	0,42	0,31	0,04	0,33	0,09
Hydrochlorothiazide	0,46	0,30	0,05	0,49	0,04
Clopamide	0,49	0,34	0,07	0,52	0,26
Méthazolamide	0,51	0,35	0,11	0,29	0,26
Chlorthalidon	0,56	0,36	0,08	0,66	0,12
Benzthiazide	0,59	0,34	0,11	0,72	0,18
Hydrofluméthiazide	0,60	0,44	0,11	0,71	0,08
Méthyclothiazide	0,64	0,52	0,15	0,69	0,15
Clorexone	0,69	0,49	0,17	0,61	0,37
Disamide	0,74	0,61	0,21	0,68	0,10
Clofénamide	0,75	0,56	0,19	0,63	0,12
Buthiazide	0,77	0,64	0,22	0,81	0,12
Polythiazide	0,77	0,62	0,22	0,79	0,22
Cyclopenthiazide	0,79	0,68	0,25	0,85	0,14
Altizide	0,82	0,66	0,25	0,79	0,19
Téclothiazide	0,83	0,48	0,26	0,73	0,14
Diclofénamide	0,84	0,68	0,34	0,82	0,12
Ethoxzolamide	0,85	0,71	0,46	0,76	0,51
Bendrofluméthiazide	0,86	0,77	0,33	0,87	0,20

Le choix d'une triade de solvants doit être dicté par quelques impératifs, parmi lesquels il convient de retenir : une vitesse de migration assez rapide, l'obtention de spots réguliers, bien délimités, avec un minimum de diffusion, une répartition homogène tout au long de la chromatoplaque et enfin un écart, le plus grand possible, entre le spot qui migre le moins et celui qui se déplace le plus haut. Il est évident que tous ces impératifs ne seront pas respectés et que le choix de nos solvants ne sera qu'un compromis entre ces différentes conditions.

Les tableaux que nous venons de présenter permettent de calculer facilement un écart moyen qui nous donne une idée de la reproductibilité des Rf dans l'ensemble de notre série. Il paraît à première vue que le solvant le plus souhaitable sera celui pour lequel cet écart type moyen est le plus petit. Nous donnons, dans le tableau VII le résumé de nos observations.

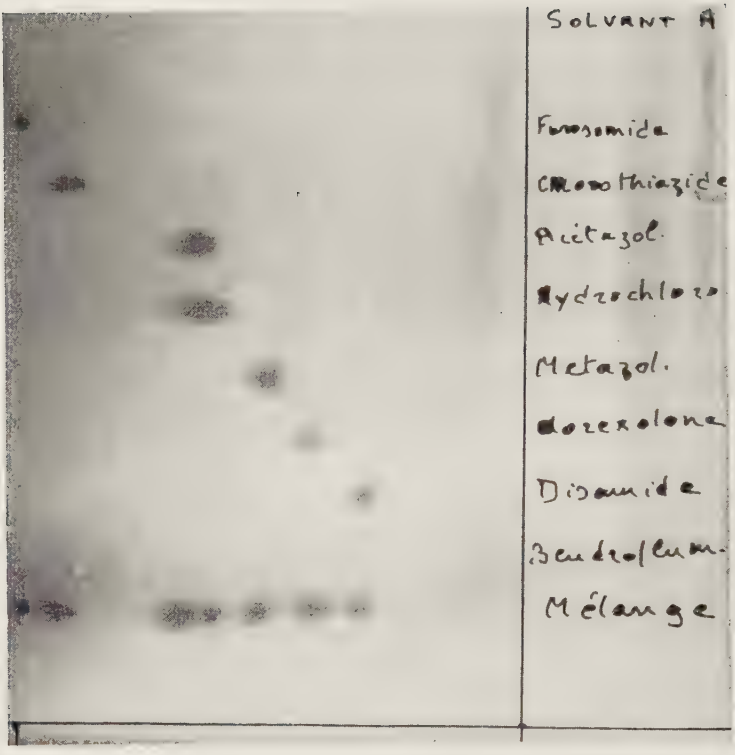
TABLEAU VII

Résumé

Solvants	σ *Moyen*	*Ecart maximum*		*Répartition*	*Remarques*
A	0,036	0,05 à 0,86	0,81	bonne	ordre peu différent de B et identique à C
B	0,027	0 à 0,77	0,77	bonne	démixion
C	0,020	0 à 0,46	0,46	17 spots entre 0 et 0,22	
D	0,027	0,06 à 0,87	0,81	bonne (comètes)	migration très lente
E	0,020	0 à 0,51	0,51	19 spots entre 0 et 0,22	ordre différent de A

Ce tableau nous permet d'éliminer en premier lieu le solvant D car la migration est très lente et les spots présentent souvent des comètes. De même, nous éliminons le solvant C car 17 spots sont compris dans les limites de Rf entre 0 et 0,22. Il reste donc les trois solvants A, B et E. Pour les deux premiers, la séparation est bonne, les écarts maximum importants, et on ne peut soulever qu'une légère objection : la démixion du solvant B (démixion en cours de migration et sur la chromatoplaque, mais non dans la cuve de développement). On peut enfin nous objecter que dans le cas du solvant E retenu, la répartition n'est pas très heureuse (19 spots entre 0 et 0,22), mais nous rétorquerons que l'ordre des sulfamides sur la chromatoplaque est différent de celui observé pour les solvants A et B.

Nous présentons sur la page suivante le cliché d'une chromatoplaque, réalisée dans le solvant A, nous permettant de séparer 8 sulfamides : Furosémide — Chlorothiazide — Acétazolamide — Hydrochlorothiazide — Méthazolamide — Clorexolone — Disamide et Bendrofluméthiazide, déposés seuls, puis en mélange des 8 produits.



Cliché montrant les huit sulfamides séparés

CHAPITRE III

RELATION STRUCTURE - MIGRATION

La série des produits que nous avons étudiés sur le plan de l'analyse qualitative par chromatographie présente quelques corps pour lesquels il est possible d'établir une certaine filiation. Il eût été certes plus intéressant de disposer d'une même série chimique pour étudier les relations entre la structure et la migration sur chromatoplaques. Le but essentiel de notre thèse ne se rapportant pas à cette étude, nous allons essayer simplement de rechercher, dans le cas des analogies rencontrées pour nos produits, quelles sont les incidences des modifications structurales sur les Rf calculés.

I - MODIFICATIONS STRUCTURALES ENVISAGEES.

Les séries que nous avons présentées peuvent nous permettre d'étudier sur un nombre très restreint de cas les modifications suivantes :

— Passage d'un dérivé à son homologue supérieur,
— Branchement d'un atome de chlore sur le noyau,
— Remplacement d'un atome de chlore par un groupement trifluorométhyl,
— Saturation d'une double liaison dans le noyau benzothiadiazine,
— Remplacement d'un hydrogène par un groupement trichlorméthyl,
— Alourdissement de la molécule,
— Introduction d'une chaîne soufrée.

Dans les deux derniers cas, les modifications moléculaires sont assez importantes, elles ne sont pas régulières, et nous aurons l'occasion de dire que les variations de migration ne sont en définitive que la résultante de ces modifications.

II. - PROTOCOLE DE COMPARAISON.

Après avoir classé nos produits par analogies structurales, nous avons recherché la nature des modifications dont nous venons de parler. Dans chaque cas, nous comparons alors la molécule modifiée à celle qui lui a donné naissance.

Cette étude est faite sur la base des Rf obtenus avec les cinq solvants proposés. Lorsque le dérivé présente un Rf supérieur à celui du produit de base, nous affectons la différence des deux Rf du signe + ; dans les cas contraires, du signe —. Pour avoir une idée d'ensemble de l'incidence des modifications structurales, nous calculons la valeur moyenne des variations. Celle-ci est d'autant plus grande que la modification de structure a plus d'importance sur la vitesse de migration. Nous donnons dans le tableau ci-après les résultats de ces observations.

TABLEAU I

Relation Structure - Migration (Résumé)

la modification	DERIVES		SOLVANTS					*Moyenne*
	Références	*modifié*	A	B	C	D	E	
Homologue supérieur	Acétazolamide	Méthazolamide	+ 9	+ 4	+ 7	— 4	+ 17	6
—	Clofénamide	Disamide	0	+ 5	+ 2	+ 5	— 2	2
Addition d'un Cl	Clofénamide	Diclofénamide	+ 1	+ 12	+ 15	+ 19	0	8,1
Remplacement d'un Cl par CF_3	Chlorothiazide	Fuméthiazide	— 4	+ 2	+ 2	+ 19	+ 2	4
	Hydrochlorothiazide	Hydrofluméthiazide	+ 14	+ 14	+ 6	+ 22	+ 4	12
Saturation de la double liaison	Chlorothiazide	Hydrochlorothiazide	+ 25	+ 27	+ 4	+ 26	+ 1	16,6
Remplacement d'un H par CCl_3	Hydrochlorothiazide	Teclothiazide	+ 37	+ 18	+ 21	+ 24	+ 10	22
Alourdissement de la molécule	Hydrochlorothiazide	Buthiazide	+ 31	+ 34	+ 17	+ 32	+ 8	24
	Hydrofluméthiazide	Cyclopenthiazide	+ 33	+ 38	+ 20	+ 36	+ 10	27
		Bendrofluméthiazide	+ 36	+ 33	+ 22	+ 16	+ 12	23,8
Introduction d'une chaîne soufrée	Hydrochlorothiazide	Altizide	+ 36	+ 36	+ 20	+ 30	+ 15	27,4
	Chlorothiazide	Polythiazide	+ 31	+ 32	+ 17	+ 30	+ 18	27,6
		Benzthiazide	+ 38	+ 31	+ 10	+ 49	+ 15	28,6

* Les chiffres mentionnés représentent les différences de Rf exprimées en mm.

III. - PRESENTATION DES RESULTATS.

Dans le cadre de leur étude, nous avons classé les modifications de structure en fonction de leur incidence sur la vitesse de migration. Nous réserverons un paragraphe par modification.

1°) Homologue supérieur :

La comparaison, ici, peut être établie sur deux cas : le premier avec le Méthazolamide (homologue supérieur) et l'Acétazolamide, le second avec le Disamide (homologue supérieur) et le Clofénamide.

L'introduction d'un radical méthyl branché sur l'un des cycles des molécules n'entraîne qu'une légère augmentation du Rf. Cette constatation est assez logique puisqu'on diminue ainsi le caractère polaire de la molécule, donc, ses possibilités d'adsorption sur le gel (ces résultats s'avèrent être en parfait accord avec ceux donnés par Raimondi (22) pour les sulfamides antibactériens). Mentionnons toutefois deux anomalies :

— pour le Méthazolamide, le cas du solvant D, où on assiste à une inversion ;

— pour le Disamide, celui du solvant E, où le phénomène est minime.

2°) Addition d'un atome de chlore :

L'addition d'un atome de chlore a pu être étudiée grâce à la comparaison du Diclofénamide et du Clofénamide. Dans ce cas encore la modification entraîne une augmentation du Rf légèrement plus importante que précédemment.

3°) Remplacement d'un atome de chlore par un groupement trifluorométhyl :

L'influence d'un tel remplacement a été étudiée sur deux dérivés : le Fluméthiazide comparé au Chlorothiazide et l'Hydrofluméthiazide à l'Hydrochlorothiazide. Les variations constatées ne sont pas les mêmes dans les deux cas. Dans le premier, l'augmentation du Rf apportée par le groupement CF_3 est moins grande que dans le second. Sans doute, faut-il voir là l'influence prépondérante de la double liaison 3 - 4 sur le noyau chlorothiazide, l'existence de cette dernière entraînant des capacités d'adsorption plus grandes, de telle sorte que la présence du groupement CF_3 ne se manifeste que faiblement.

4°) Saturation de la double liaison :

Le paragraphe précédent nous conduit automatiquement à parler de cette modification. L'étude est faite en comparant l'Hydrochlorothiazide (double liaison 3-4 saturée) au Chlorothiazide, et l'Hydrofluméthiazide au Fluméthiazide. On constate dans les deux cas une augmentation importante des Rf, ce qui se conçoit aisément en connaissant le caractère freinateur d'une double liaison.

5°) **Remplacement d'un hydrogène par un reste trichlorméthyl**

Nous abordons avec cette modification structurale les quelques cas où les Rf sont grandement affectés. La comparaison a été menée entre le Téclothiazide ($C Cl_3$ en plus) et l'Hydrochlorothiazide. L'introduction du substituant en R_2 entraîne une augmentation importante qui est surtout marquée dans le cas du solvant A et celui du solvant D, elle est moindre pour le solvant E.

6°) **Alourdissement de la molécule :**

L'étude de l'alourdissement de la molécule a pu être conduite dans la série de l'Hydrochlorothiazide. Nous avons, en effet, la possibilité d'étudier par rapport à ce dérivé : le Benzthiazide (isobutyl en R_2), le Cyclopenthiazide (cyclopentyl en R_2), le Bendrofluméthiazide (benzyl en R_2 et CF_3 en R_1). L'augmentation de la masse moléculaire apportée par ces différents substituants est respectivement de 57 - 83 et 92. En ce qui concerne les Rf, l'incidence est importante pour le reste isobutyl, elle l'est encore plus pour le reste Cyclopentyl. Par contre, dans le cas de la substitution benzyl, l'augmentation est assez voisine de celle remarquée pour le radical isobutyl. Les deux premières constatations s'expliquent aisément par la diminution de polarité de la molécule. En ce qui concerne le reste benzyl, il faut faire intervenir la présence des trois doubles liaisons du cycle pour expliquer que, malgré l'augmentation de masse plus importante, on constate une variation moindre du Rf.

7°) **Introduction d'une chaîne soufrée :**

Toujours dans la série des dérivés de l'Hydrochlorothiazide, nous pouvons étudier l'effet produit par l'adjonction d'une chaîne soufrée. Nous comparons alors l'Hydrochlorothiazide à l'Altizide (à chaîne thiapenthényl = 87), au Polythiazide (à chaîne trifluoroéthylthiométhyl = 129) et enfin le Chlorothiazide au Benzthiazide (à chaîne benzylthiométhyl = 137). Dans ces trois cas, les augmentations de Rf sont les plus importantes que nous ayons constatées et on assiste à une croissance régulière de ces valeurs en fonction de la masse du substituant. Il semble que dans ce cas l'existence des doubles liaisons soit moins prépondérante.

Nous n'avons pas la prétention, dans ce chapitre, d'aborder en détails l'étude des variations de Rf en fonction des modifications de structure, nous avons simplement voulu présenter les constatations que l'on peut faire et essayer de les expliquer à la lumière des connaissances actuelles.

TROISIEME PARTIE

ESSAIS SYSTEMATIQUES D'IDENTIFICATION

CHAPITRE PREMIER

DESCRIPTION DE LA METHODE D'IDENTIFICATION

Ceux qui ont quelque peu pratiqué les techniques chromatographiques, qu'il s'agisse de procédés utilisant pour support le papier ou la couche mince, savent que la valeur des Rf donnée en fonction des solvants de développement n'est nullement une caractéristique de l'espèce chimique étudiée, tout au plus peut-on considérer que dans une même série chimique, l'ordre des Rf se retrouve d'une chromatographie à l'autre, mais on assiste indiscutablement à des variations dues au fait que les conditions opératoires ne sont pas strictement reproductibles. Il suffit de penser, dans le cas de la C.C.M., aux variations de température, à celles du gel : soit que l'origine change, soit encore que les conditions d'étalement varient quelque peu d'une expérience à l'autre.

Il faut donc trouver un moyen de comparaison constant entre les Rf obtenus lors d'une expérimentation et ceux calculés à partir d'une série de chromatographies de référence. En 1965, le Professeur Pastor (19) publiait un procédé d'identification systématique d'une espèce chimique prise dans une série connue. Deux de ses élèves : R. Raimondi (22) et M. Valimamod (29) reprenaient l'étude de ce procédé pour l'identification respective des Sulfamides antibactériens et des dérivés de la Phénothiazine. Nous allons donner le principe de la méthode utilisée et présenterons dans le chapitre suivant les essais systématiques réalisés par nos soins.

I - PRINCIPE.

A partir des tableaux de Rf dressés en utilisant les trois solvants A - B et E, que nous avons retenus, il convient de choisir quatre sulfamides de référence qui, autant que faire se peut, ont pour les trois solvants des Rf qui se répartissent de façon homogène dans les trois tableaux de migration en laissant entre eux la place pour un certain nombre de produits. Il convient, de plus, de retenir comme produit de référence des sulfamides diurétiques dont les Rf sont particulièrement reproductibles, et pour lesquels les spots sont nets et non diffus. Toutes ces considérations nous ont amené

à retenir comme produit de référence le Chlorthalidon (A), le Clorexolone (B), le Buthiazide (C) et le Bendrofluméthiazide (D).

La technique d'identification consiste à comparer la valeur du Rf x trouvée pour un sulfamide X à celle de l'un des produits de référence et à calculer ensuite quelle aurait été la valeur du Rf de X si la chromatographie avait été conduite le même jour où ont été effectuées les chromatographies de référence. Cette opération est réalisée pour les spots obtenus avec les trois solvants de développement.

La méthode d'identification se ramène à trois opérations distinctes :

— Calcul du Rf théorique,

— Etablissement d'une probabilité,

— Confirmation et identification.

Soit à identifier un sulfamidé diurétique X en retenant comme produit de référence les quatre sulfamides A - B - C - D.

1°) **Calcul du Rf théorique :**

Après avoir réalisé trois chromatoplaques avec les solvants A - B et E, pour le sulfamidé X et les quatre produits de référence, on calcule les Rf actuels X = x, A = a, B = b, C = c et D = d ; puis, en se rapportant à la liste des Rf donnée dans notre thèse, on calcule le Rf théorique x' du produit X. Pour ce faire, on choisit parmi les substances de référence celles dont le Rf « actuel » est le plus voisin de x, soit par, exemple, C, cette substance de Rf théorique c', le Rf théorique x' de X est donné par la formule

$$x' = \frac{c' \times x}{c}$$

2°) **Etablissement d'une probabilité :**

Le calcul précédent est effectué pour les trois solvants de développement, soit, par exemple, les Rf suivants :

x'_1 pour le solvant A
x'_2 » » B
x'_3 » » E

On cherche alors dans les tableaux de Rf quels sont pour chaque solvant de développement les sulfamides dont le Rf est compris entre $x' \pm 0{,}05$. Il s'agit de sulfamidés probables, la comparaison des trois tableaux montre la présence dans chacun d'eux de dérivés identiques ; ces produits sont en général au nombre de un, deux ou trois. Le sulfamidé à identifier a de très fortes chances d'être l'un des trois.

3°) **Confirmation et identification :**

On procède alors à trois nouvelles chromatographies en déposant sur les chromatoplaques les trois sulfamidés supposés, le dérivé

à identifier et trois mélanges du dérivé à identifier avec, systématiquement, l'un des trois sulfamidés supposés (soit en tout sept spots). Après migration dans chaque solvant de développement, on observe sur les trois plaques la position des spots. Le sulfamidé à identifier correspond à celui pour lequel les Rf du produit étalon et de l'inconnue sont identiques, le mélange des deux devant fournir un spot unique, très net, et à contours réguliers.

Ces opérations sont résumées dans les figures 1 et 2 ci-dessous.

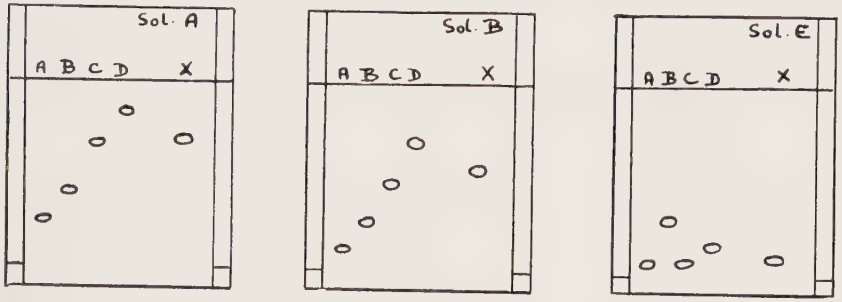


Figure 1
Calcul du Rf théorique

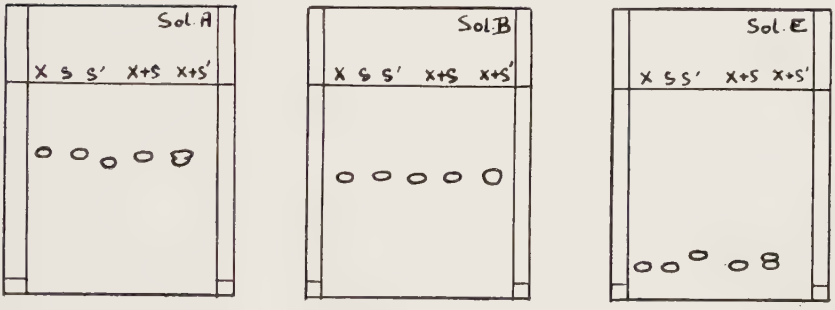


Figure 2
Contrôle de confirmation et identification

(On note que dans le cas du mélange du sulfamide inconnu X et d'un sulfamide supposé S, le spot est net sur les trois chromatographies dans les solvants A - B et E, alors que le mélange du même sulfamide inconnu X et d'un sulfamide supposé S' fait apparaître, après la migration, un spot double dans le cas du solvant A et du solvant E et une tache diffuse dans le cas du solvant B. Donc, le sulfamide X est le sulfamide S supposé).

Pour rendre un peu moins rébarbative la théorie que nous venons d'exposer, nous allons nous appuyer sur trois exemples concrets.

II - EXEMPLES CONCRETS.

1°) Premier exemple :

Le sulfamide à caractériser sera appelé X. Nous suivrons le plan général déjà annoncé, c'est-à-dire : calcul du Rf théorique, établissement d'une probabilité, constitution d'un tableau de fréquences et analyse confirmative du résultat.

A) Calcul du Rf théorique de X :

Nous présentons nos résultats dans les trois solvants A - B et E.

Solvant A	Rf. théoriques	Rf. actuels
Chlorthalidon	0,56	0,52
Clorexolone	0,69	0,62
Buthiazide	0,77	0,74
Bendrofluméthiazide	0,86	0,85
X	$x'_1 = 0,67$	$x_1 = 0,60$

Solvant B	Rf. théoriques	Rf. actuels
Chlorthalidon	0,36	0,49
Clorexolone	0,49	0,58
Buthiazide	0,64	0,74
Bendrofluméthiazide	0,77	0,84
X	$x'_2 = 0,56$	$x_2 = 0,64$

Solvant E	Rf. théoriques	Rf. actuels
Chlorthalidon	0,12	0,11
Clorexolone	0,37	0,33
Buthiazide	0,12	0,12
Bendrofluméthiazide	0,20	0,19
X	$x'_3 = 0,17$	$x_3 = 0,155$

On trouve donc pour X les valeurs de Rf suivantes dans les solvants A - B et E respectivement égales à :

$x'_1 = 0,67$ — $x'_2 = 0,56$ — $x'_3 = 0,17$

Tenant compte des limites que nous nous sommes fixées quant à la fidélité de nos Rf en fonction du calcul des écarts types, nous

allons faire figurer pour les trois solvants tous les produits se trouvant dans le domaine de $x'_1 \pm 0,05$
$x'_2 \pm 0,05$
$x'_3 \pm 0,05$

B) Etablissement d'une probabilité :

SOLVANT : A	
$x'_1 = 0,67$	Domaine probable : 0,62 à 0,72
	Rf. théoriques
Méthyclothiazide	0,64
Clorexolone	0,69

SOAVANT B :	
$x'_2 = 0,56$	Domaine probable : 0,51 à 0,61
	Rf. théoriques
Méthyclothiazide	0,52
Clofénamide	0,56
Disamide	0,61

SOLVANT : E	
$x'_3 = 0,17$	Domaine probable : 0,12 à 0,22
	Rf. théoriques
Clofénamide	0,12
Chlorthalidon	0,12
Buthiazide	0,12
Diclofénamide	0,12
Cyclopenthiazide	0,14
Téclothiazide	0,14
Méthyclothiazide	0,15
Benzthiazide	0,18
Altizide	0,19
Bendrofluméthiazide	0,21
Polythiazide	0,22

C) Tableau des fréquences — Confirmation et identification :

Méthyclothiazide	3
Clofénamide	2

Il est fort probable que le sulfamide à identifier soit le Méthyclothiazide puisque dans le tableau des possibilités, il est le seul que l'on retrouve chaque fois.

Par mesure de sécurité, nous préparons trois chromatoplaques (dans les conditions précisées précédemment) et nous procédons au développement de chacune d'elles dans les solvants A - B et E. Seul, le mélange sulfamide à identifier plus Méthyclothiazide donne un spot unique bien délimité. Le mélange du produit à identifier plus Clofénamide donne des spots doubles.

Nous avons choisi là un exemple particulièrement simple. Nous allons envisager un autre cas, dans lequel l'identification se complique un peu et où l'on est obligé de faire appel à la somme des écarts entre le Rf théorique trouvé lors de l'identification, et le Rf qui figure dans nos tableaux.

Nous présentons encore de la même façon les résultats de notre identification.

Nous appellerons encore le sulfamidé inconnu X et suivrons le même plan pour la présentation des résultats.

2°) **Deuxième exemple :**

A) Calcul du Rf théorique de X :

Solvant A	Rf. théoriques	Rf. actuels
Chlorthalidon	0,56	0,55
Clorexolone	0,69	0,66
Buthiazide	0,77	0,79
Bendrofluméthiazide	0,86	0,88
X	$x'_1 = 0,79$	$x_1 = 0,81$

Solvant B	Rf. théoriques	Rf. actuels
Chlorthalidon	0,36	0,33
Clorexolone	0,49	0,53
Buthiazide	0,64	0,72
Bendrofluméthiazide	0,77	0,80
X	$x'_2 = 0,71$	$x_2 = 0,75$

Solvant E	Rf. théoriques	Rf. actuels
Chlorthalidon	0,12	0,13
Clorexolone	0,37	0,39
Buthiazide	0,12	0,15
Bendrofluméthiazide	0,20	0,20
X	$x'_3 = 0,17$	$x_3 = 0,18$

donc $x'_1 = 0,79$
$x'_2 = 0,71$
$x'_3 = 0,17$

B) Etablissement d'une probabilité :

SOLVANT : A		
$x'_1 = 0,79$	Domaine probable : 0,74 à 0,84	
		Rf. théoriques
Disamide		0,74
Clofénamide		0,75
Buthiazide		0,77
Polythiazide		0,77
Cyclopenthiazide		0,79
Altizide		0,82
Téclothiazide		0,83
Diclofénamide		0,84

SOLVANT : B		
$x'_2 = 0,71$	Domaine probable : 0,66 à 0,76	
		Rf. théoriques
Altizide		0,66
Diclofénamide		0,68
Cyclopenthiazide		0,68
Ethoxzolamide		0,71

SOLVANT : E	
$x'_3 = 0,17$	Domaine probable : 0,12 à 0,22
	Rf. théoriques
Clofénamide	0,12
Chlorthalidon	0,12
Buthiazide	0,12
Diclofénamide	0,12
Cyclopenthiazide	0,14
Téclothiazide	0,14
Méthyclothiazide	0,15
Benzthiazide	0,18
Altizide	0,19
Bendrofluméthiazide	0,21
Polythiazide	0,22

C) Tableau des fréquences — Confirmation et identification :

SULFAMIDES	Fréquence	Ecart	Somme des écarts
Cyclopenthiazide	3	0 0,03 0,03	0,06
Altizide	3	0,03 0,05 0,02	0,10
Diclofénamide	3	0,05 0,02 0,05	0,12
Clofénamide	2		
Téclothiazide	2		
Buthiazide	2		

Il résulte du dernier tableau présenté que trois sulfamidés sont possibles puisqu'on les retrouve trois fois (le Cyclopenthiazide - l'Altizide et le Diclofénamide). Il convient alors de prendre en considération comme nous l'avons dit précédemment l'écart qui existe entre le Rf théorique du sulfamide X (Rf calculé à partir du Rf actuel) et les Rf théoriques des trois produits possibles. Il est fort vraisemblable que le dérivé à identifier est celui pour lequel la

somme des écarts types est la plus petite. Dans l'exemple choisi, les chromatographies ont permis de confirmer que le corps à identifier était bien le Cyclopenthiazide, c'est-à-dire celui pour lequel, en effet, la somme des écarts était la plus petite.

Cette méthode de pré-identification est assez séduisante, mais ne s'avère pas exacte dans tous les cas. Nous donnons, à titre d'exemple, un essai d'identification pour lequel le produit recherché ne correspondait pas à celui dont la somme des écarts était la plus petite.

3°) **Troisième exemple :**

A) Calcul du Rf théorique de X :

Solvant A	Rf. théoriques	Rf. actuels
Chlorthalidon	0,56	0,55
Clorexolone	0,69	0,66
Buthiazide	0,77	0,79
Bendrofluméthiazide	0,86	0,88
X	$x'_1 = 0,74$	$x_1 = 0,76$

Solvant B	Rf. théoriques	Rf. actuels
Chlorthalidon	0,36	0,33
Clorexolone	0,49	0,53
Buthiazide	0,64	0,72
Bendrofluméthiazide	0,77	0,80
X	$x'_2 = 0,61$	$x_2 = 0,69$

Solvant E	Rf. théoriques	Rf. actuels
Chlorthalidon	0,12	0,13
Clorexolone	0,37	0,39
Buthiazide	0,12	0,15
Bendrofluméthiazide	0,20	0,20
X	$x'_3 = 0,10$	$x_3 = 0,12$

donc $x'_1 = 0,74$
$x'_2 = 0,61$
$x'_3 = 0,10$

B) Etablissement d'une probabilité :

SOLVANT : D	
$x'_1 = 0,74$	Domaine probable : 0,69 à 0,79
	Rf. théoriques
Clorexolone	0,69
Disamide	0,74
Clofénamide	0,75
Buthiazide	0,77
Polythiazide	0,77
Cyclopenthiazide	0,79

SOLVANT : B	
$x'_2 = 0,61$	Domaine probable : 0,56 à 0,66
	Rf. théoriques
Clofénamide	0,56
Polythiazide	0,63
Buthiazide	0,65
Altizide	0,66

SOLVANT : E	
$x'_3 = 0,10$	Domaine probable : 0,05 à 0,15
	Rf. théoriques
Fluméthiazide	0,05
Probénécide	0,05
Hydrofluméthiazide	0,08
Acétazolamide	0,09
Disamide	0,10
Clofénamide	0,12
Chlorthalidon	0,12
Buthiazide	0,12
Diclofénamide	0,12
Cyclopenthiazide	0,14
Téclothiazide	0,14
Méthyclothiazide	0,15

C) Tableau des fréquences — Confirmation et identification :

Sulfamides	Fréquence	Ecart	Somme des écarts
Clofénamide	3	0,01 0,05 0,02	0,08
Buthiazide	3	0,03 0,01 0,02	0,06
Disamide	2		
Polythiazide	2		

Bien que l'on puisse penser d'après ce dernier tableau que le sulfamide X est le Buthiazide, les chromatographies de contrôle nous ont montré qu'en fait il s'agissait du Clofénamide. La méthode n'est donc pas absolument systématique, mais nous reconnaissons à sa décharge que, dans ce cas litigieux, la somme des écarts est voisine : 0,06 et 0,08.

CHAPITRE II

ESSAIS SYSTEMATIQUES DE LA METHODE

I - ESSAIS SUR UNE SOLUTION PURE.

Afin de voir si la technique que nous venons de présenter était valable pour tous les sulfamidés étudiés et conduisait chaque fois à un résultat exact, nous avons procédé à son essai systématique en identifiant le sulfamide contenu dans une solution acétonique sans savoir, au départ, quelle était la nature de ce dernier. Il est évident qu'afin de travailler chaque fois en « aveugle », la personne qui nous donnait ces solutions a été quelques fois amenée à nous mettre un sulfamidé déjà identifié afin que nous n'ayons pas la possibilité de procéder par simple élimination. Nous présentons dans le tableau I ci-dessous les résultats que nous avons obtenus en mentionnant : le nom du sulfamide à identifier, le nombre d'essais réalisés sur ce dernier, le résultat de l'identification et, enfin, des observations expliquant ce résultat.

Il résulte de cet essai d'identification systématique que, sur 38 tentatives d'identification, nous avons obtenu 36 résultats exacts et que dans les deux cas restants, nous n'avons pas pu identifier le produit, nous sommes donc resté sur une expectative prudente. Il est remarquable de constater que dans aucun cas nous n'avons donné de réponse éronnée, ce qui permet de conclure de la sécurité de la méthode.

II - ESSAIS D'IDENTIFICATION DES SULFAMIDES DANS LES COMPRIMES.

Pensant que la technique était au point, nous sommes passé à l'identification du sulfamidé diurétique contenu dans les spécialités pharmaceutiques d'usage courant à l'Hôpital. L'identification a été conduite de la façon suivante : le comprimé est pulvérisé et la poudre ainsi obtenue est traitée par un volume d'acétone tel que 1 ml de la solution obtenue renferme 1 mg de principe actif. Lorsque la quantité de solvant utilisé devait être trop importante, nous avons opéré sur une aliquote de la poudre obtenue. Nous

TABLEAU I

Essais d'identification d'un sulfamidé en solution acétonique à 1 p. 1 000

SULFAMIDE à identifier	Nombre d'essais	Résultats trouvés	Observations
Polythiazide	2	Polythiazide	Trouvé les deux fois.
Ethoxzolamide	2	Ethoxzolamide	»
Diclofénamide	2	Diclofénamide	»
Méthyclothiazide	1	———	
Méthyclothiazide	1	Méthyclothiazide	Pas de confusion mais pas de résultat trouvé.
Bendrofluméthiazide	2	Bendrofluméthiazide	Trouvé toutes les fois.
Clofénamide	2	Clofénamide	»
Cyclopenthiazide	5	Cyclopenthiazide	»
Hydrochlorothiazide	2	Hydrochlorothiazide	»
Acétazolamide	2	Acétazolamide	»
Téclothazide	2	Téclothiazide	»
Furosémide	2	Furosémide	»
Chlorthalidon	1	Chlorthalidon	»
Buthiazide	1	Buthiazide	»
Hydrofluméthiazide	2	Hydrofluméthiazide	»
Altizide	1	Altizide	»
Méthazolamide	1	———	Pas de confusion, mais pas de résultats.
Disamide	2	Disamide	Trouvé toutes les fois.
Benzthiazide	1	Benzthiazide	»
Chlorothiazide	1	Chlorothiazide	»
Fluméthiazide	2	Fluméthiazide	»
Probénécide	1	Probénécide	»
Clopamide	1	Clopamide	»
Clorexolone	1	Clorexolone	»

donnons dans le tableau II suivant les résultats de ces essais d'identification en indiquant : le nom de la spécialité, la nature du principe actif (P.A.), la teneur d'un comprimé en principe actif, la valeur de la prise d'essai en fractions de comprimé (P.E.), les résultats obtenus, et les remarques relatives à ces résultats.

Les résultats que nous venons de présenter sont moins encourageants que ceux réalisés sur solution pure. Les deux erreurs rencontrées : Confusion du Benzthiazide avec le Cyclopenthiazide, d'une part, et du Furosémide avec le Probénécide, d'autre part, peuvent s'expliquer par le fait que dans le premier cas il s'agit de deux sulfamides de structure voisine : le Benzthiazide à chaîne latérale isobutyl, le Cyclothiazide à chaîne latérale cyclopenthyl. Les Rf trouvés dans les trois solvants de développement sont très voisins et ne diffèrent au maximum que de 0,04 unités dans le cas du solvant B. Nous nous trouvons devant une difficulté que seul pourrait résoudre un essai supplémentaire faisant intervenir le sovant D qui, lui aussi, donne une différence de Rf de 0,04 unités.

Notre deuxième essai infructueux a trait à la confusion du Furosémide avec le Probénécide. Dans ce cas, les différences structurales sont énormes. Il s'agit de deux produits qui migrent très peu avec les solvants utilisés. Dans le cas du Furosémide, la migration minime ou nulle s'explique par l'existence des doubles liaisons dans l'hétérocycle furfuryl ; au contraire, dans le cas du Probénécide, la faible migration est due au radical acide du cycle sulfamoyl benzoïque. Il serait assez facile d'éviter cette confusion en traitant la solution acétonique du sulfamide par de la soude normale qui extrait le Probénécide grâce à son radical carboxylique, le surnageant acétonique, dans ce cas, ne doit plus renfermer de sulfamide et ne donnera rien sur chromatoplaque.

Il reste à expliquer pourquoi les identifications sur solutions pures ont été correctes, alors qu'elles ne le sont pas toujours dans le cas des comprimés : sans doute faut-il faire intervenir ici le rôle joué par l'excipient.

III - ESSAIS D'IDENTIFICATON D'UN MELANGE DE DEUX SULFAMIDES.

Les identifications de sulfamide en solution pure nous ayant donné de bons résultats, nous avons tenté de réaliser l'identification d'un mélange de deux produits. Ces essais ne sont intéressants que sur le plan théorique puisqu'en fait il n'existe pas en thérapeutique de forme galénique renfermant ce type de mélange.

Nous nous sommes adressé à 18 mélanges et donnons dans le tableau III ci-dessous les résultats que nous avons obtenu en indiquant : les constituants du mélange, les résultats trouvés et les remarques relatives à nos conclusions.

TABLEAU II

Identification dans les comprimés

Spécialités	P. A.	Dose en mg	P. E. en cp	Résultats	Remarques
Naturine	Bendrofluméthiazide	5	1	Bendrofluméthiazide	Trouvé
Adémol	Fluméthiazide	30	1/4	Fluméthiazide	»
Léodrine	Hydrofluméthiazide	50	1/10	Hydrofluméthiazide	»
Aquedux	Clofénamide	200	1/20	Clofénamide	»
Flonatril	Clorexolone	25	1/5	Clorexolone	»
Fovane	Benzthiazide	5	1	Benzthiazide	»
Eunéphran	Buthiazide	40	1/4	Cyclopenthiazide	Non identifié
Lasilix	Furosémide	40	1/4	Probénécide	Non identifié
Enduron	Méthyclothiazide	5	1	Méthyclothiazide	Trouvé
Diamox	Acétazolamide	250	1/50	Acétazolamide	»
Diurilix	Chlorothiazide	500	1/100	Chlorothiazide	»
Brinaldix	Clopamide	500	1/100	Clopamide	»
Hygroton	Chlorthalidon	100	1/20	Chlorthalidon	»

TABLEAU III

Séparation d'un mélange de 2 sulfamidés en solution acétonique à 1 p. 1 000

N°	Constituants du mélange	Résultats obtenus	Remarques
1	Chlorthalidon Thiabutazide	Chlorthalidon Thiabutazide	Bonne identification.
2	Clopamide Hydrofluméthiazide	Clopamide Hydrofluméthiazide	»
3	Méthazolamide Clofénamide	Méthazolamide Clofénamide	»
4	Clopamide Téclothiazide	Clopamide Téclothiazide	»
5	Hydrochlorothiazide Altizide	Hydrochlorothiazide Altizide	»
6	Acétazolamide Clopamide	Acétazolamide Méthazolamide	Résultat exact. Erreur.
7	Furosémide Bendrofluméthiazide	Furosémide Bendrofluméthiazide	Bonne identification.
8	Diclofénamide Altizide	Diclofénamide Altizide	»
9	Disamide Buthiazide	Disamide Buthiazide	»
10	Benzthiazide Altizide	Benzthiazide Cyclopenthiazide	Résultat exact. Erreur.
11	Furosémide Polythiazide	Furosémide Polythiazide	Bonne identification.
12	Méthazolamide Hydrofluméthiazide	Méthazolamide Hydrofluméthiazide	»
13	Cyclopenthiazide Altizide	Cyclopenthiazide Altizide	»
14	Téclothiazide Ethoxzolamide	Téclothiazide Ethoxzolamide	»
15	Furosémide Clorexolone	Furosémide Clorexolone	»
16	Probénécide Benzthiazide	Probénécide Chlorthalidon	Résultat exact. Erreur.
17	Méthazolamide Clofénamide	Méthazolamide Clofénamide	Bonne identification.
18	Clorexolone Disamide	Clorexolone Disamide	»

Il résulte de ces essais pratiqués sur des mélanges faits au hasard que la méthode d'identification de mélanges binaires n'est pas aussi sûre que celle retenue pour les solutions simples. En effet, sur 18 mélanges étudiés (soit 36 sulfamides), nous avons commis 3 confusions : Clopamide avec Méthazolamide, Altizide avec Cyclopenthiazide et Benzthiazide avec Chlorthalidon. Nous n'avons pas poussé plus avant nos investigations car il s'agissait, en fait, d'une simple étude théorique. Nous concluons, dans ce cas, que la méthode peut aboutir à des identifications correctes, mais qu'elle n'est pas infaillible. Nous laissons à d'autres le soin d'étudier cette question sur des séries d'espèce chimique plus homogène que la nôtre.

CONCLUSIONS GENERALES

Dans la première partie de notre thèse, nous avons consacré un assez long chapitre à la présentation des sulfamidés diurétiques. Nous sommes parfois sorti des limites assez étroites de la Chimie analytique, voire même de la Chimie pharmaceutique, pour aborder l'aspect général de la question des Sulfamides diurétiques.

Le deuxième chapitre nous a ramené aux problèmes plus précis qui nous préoccupent, puisque nous y présentons des méthodes d'identification de ces médicaments par chromatographie sur papier ou sur couche mince. Les techniques proposées par les quelques auteurs qui se sont intéressés à la question nous ont permis de suivre l'évolution des idées dans ce domaine et nous avons pu constater qu'aucun de ceux-ci ne semblait avoir abordé le problème sous son aspect général : l'étude de la classe complète de ces médicaments. Les articles publiés apportent des solutions élégantes à la résolution de questions particulières.

Dans la deuxième partie, beaucoup plus technique celle-là, nous décrivons la mise au point d'une méthode systématique d'identification, mise au point, qui comprend nécessairement, après avoir retenu le gel de silice comme support, la recherche de plusieurs solvants de développement tant il est vrai que l'on ne peut se contenter d'un seul pour une identification correcte.

Après avoir mentionné tous les solvants étudiés, nous passons à l'essai systématique des cinq retenus, cet essai systématique comportant la réalisation d'une douzaine de chromatographies par solvant et par sulfamide. Les nombreuses valeurs de Rf obtenues nous permettent de calculer dans quelles limites ceux-ci peuvent varier, ainsi que le coefficient de dispersion relatif à chaque Rf.

Dans le deuxième chapitre de cette deuxième partie, l'étude des relations entre la structure chimique et la migration nous a permis de conclure que : le passage d'un dérivé à son homologue supérieur n'entraîne qu'une légère augmentation de Rf dans tous nos solvants ; de même, l'addition d'un atome de chlore sur la molécule. Ce phénomène se remarque également dans le cas du remplacement d'un H par un groupement CF_3. Par contre, la satu-

ration d'une double liaison, le remplacement d'un H par un groupement CCl_3 ou l'assadissement de la molécule provoquent une augmentation importante des Rf.

Dans la dernière partie, enfin, nous décrivons la méthode systématique d'identification préconisée par le Professeur PASTOR et VALIMAMOD, publiée en 1965, en illustrant par trois exemples concrets les essais systématiques réalisés. Ceux-ci nous ont permis de constater que, dans le cas de solutions pures, la méthode ne donnait jamais de résultats faux, et que dans deux cas seulement il était impossible de conclure.

La même méthode utilisée pour les formes galéniques (en l'occurence, une quinzaine de comprimés) nous a fait constater que dans le cas de sulfamides à Rf très voisins (Rf ne différant pas de plus de 0,04 unités), il y avait des risques de confusion (3 confusions sur 13 essais), ce qui nous permet de conclure que la méthode systématique proposée doit, pour conduire à des réponses sûres, s'adresser à des séries chimiques pour lesquelles les différences de Rf dans les solvants utilisés sont au moins égales à 0,06 unités dans l'un des solvants.

En appliquant, enfin, cette méthode à des mélanges binaires, nous avons pu constater, là encore, quelques confusions dues, elles aussi, au fait que les produits non identifiés avaient dans les solvants étudiés des Rf trop voisins.

Nous terminerons, enfin, en disant que la méthode systématique d'identification mettant en jeu trois solvants de développement et le calcul du Rf par rapport à l'étalon est valable pour des identifications systématiques de produits en solution pure lorsque ceux-ci existent en mélange (mélange de sulfamides ou sulfamide seul accompagné d'excipient). On ne peut prétendre à une identification certaine que si la différence de Rf est au moins de l'ordre de 0,06 unités.

Lu et approuvé,
Le Président du Jury :
J. PASTOR.

Vu, à Marseille,
le 4 Décembre 1968,
Pour le Doyen, l'Assesseur :
C. GREBUS.

BIBLIOGRAPHIE

1 - ADAM R. et C. L. LAPIERE -
« J. Pharm. Belge », 1964, **19** (1 - 2), 79 - 89.

2 - CARLO A., CARDINI C. et A. MARIANI -
« Arch. Pharm. Chem. », 1961, **68,** 265 - 9.

3 - CHEVALLAY G. -
« Act. Pharm. Franç. », Oct. 1963, **23,** 241 - 4.

4 - CIER A. -
« Act. Pharm. Franç. », Août-Sept., 1963, **22,** 215 - 26.

5 - CŒUR A. -
« Act. Pharm. Franç. », Août-Sept., 1963, **22,** 203 - 14.

6 - GAWRYCH Z. and Th. POMAZANSKA -
« Acta Pol. Pharm. », 1968 - **25** (1), 39 - 43.

7 - HENTRICH K. -
« Pharmazie », 1963, **18,** 405 - 9.

8 - KALA H. -
« Pharmazie », 1961, **16,** 297 - 305.

9 - KIGER J. L. et KIGER J. G. -
« Ann. Pharm. Franç. », 1966, **24,** (9 - 10), 593 - 605.

10 - KOLUSHEVA A. and N. NIN'O -
« Farmatsiya » (Sofia) (Cf. C. A. 1964, **60,** 1542 b).

11 - KRACMAR and J. VACCK -
« Cesk Farm » (cf. C.A. 1964, **61,** 2491 e).

12 - LAFAY G. -
« Act Pharm. Franc. », Oct. 1963, **23,** 241 - 4.

13 - LESPANOL A., BAR D., LESPAGNOL Ch., DAUTREVAUX M. -
Quelques aspects de la chimie des médicaments, 1966, 21 - 27.

14 - MAILLARD, MAIENTHAL, JONAS CAROL et FUEDA, M. KENZI -
« J. Assoc. Offic. Agr. Chemists », 1961, **44,** 313 - 16.

15 - NEIDLEIN R., KRUELL H. und MEYL M. -
« Deut. Apoth. Ztg », 1965, **105,** 481 - 2.

16 - NEUMAN M. -
« Méd. et Hygiène », 30 Août 1966, n° 744.

17 - PASTOR J -
« Conf. Soc. Pharm. Marseille », 11 Janvier 1965.

18 - PASTOR J. et PAULI A.M. -
« Guide Travaux Pratiques », III^{me} A. Pharmacie, Marseille (1967).

19 - PASTOR J. et VALIMAMOD M. -
« Bulletin des Travaux de la Soc. de Pharm. de Lyon », 1965 - IX, n° 3.

20 - PIGNARD P. -
« Prod. Probl. Pharm. », 1964, **19,** 181 - 194.

21 - PIGNARD P. et M. LEGRAIN -
« Journées Pharm. Franç. » (Conf. Union des Grandes Pharmacies), 26 Sept. 1961, 18 - 22.

22 - RAIMONDI R. -
Thèse Pharm., Marseille, Juin 1965.

23 - REVOL A -
Act. Pharm. Franç. », Oct. 1963, **23,** 227 - 39.

24 - ROUX A. et ROUX-MALIGNON J.
« Ann. Pharm. Franç. », 1963, **21** (4), 345 - 8.

25 - RUGGIERI R. -
« Boll. Chim. Farm. », 1960, **99,** 20.

26 - SCWEIGK H. -
« Diuresis and Diuretics » - International symposium, Ciba, 1959.

27 - SMITH J. J. and HERMAN T. S. -
« Anal. Biochem », 1968, **22** (1), 134 - 44.

28 - DE STEVENS G. -
« Diuretics Chemistry and Pharmacology », 1963, 47 - 155.

29 - VALIMAMOD M. -
Thèse Pharm., Marseille, Juin 1965.

30 - VAN DER VENNE and T' SIOBBEL J.-B. -
« J. Pharm. Belge », 1963, **18** (11 - 12), 557 - 568.

TABLE DES MATIERES

Pages

AVANT-PROPOS.

INTRODUCTION 13

PREMIERE PARTIE

PRESENTATION DES SULFAMIDES DIURETIQUES ET IDENTIFICATION

I. - LES SULFAMIDES DIURETIQUES :

La place des Sulfamides parmi les Diurétiques :

— Action diurétique 19
— Historique 21
— Essai de classification Physiopathologique 22
— Emploi des Diurétiques 30
— Classification chimique 31

II. - METHODES D'IDENTIFICATION PAR CHROMATOGRAPHIE :

— Les techniques de séparation 40
— Les techniques de révélation 41

DEUXIEME PARTIE

MISE AU POINT D'UNE METHODE DE SEPARATION .....

I. - CHOIX DU SOLVANT DE DEVELOPPEMENT :

— Solvants simples 45
— Mélanges binaires 46
— Mélanges ternaires 49
— Mélanges quaternaires 51

II. - ESSAIS SYSTEMATIQUES DES SOLVANTS DE DEVELOPPEMENT RETENUS :

— Mode opératoire 53
— Etude statistique des résultats obtenus 56

III. - RELATION STRUCTURE - MIGRATION :

— Modifications structurales envisagées 65
— Protocole de comparaison 65
— Présentation des résultats 68

TROISIEME PARTIE

ESSAIS SYSTEMATIQUES D'IDENTIFICATION .....

I. - DESCRIPTION DE LA METHODE D'IDENTIFCATION :

— Principe 73
— Exemples concrets 76

II. - ESSAIS SYSTEMATIQUES DE LA METHODE :

— Essais sur une solution pure 84
— Essais d'identification des Sulfamides dans les comprimés 84
— Essais d'identification d'un mélange de deux Sulfamides 86

CONCLUSIONS GENERALES 91

BIBLIOGRAPHIE 95